

VISIT...

LANZAROTE
Caliente.COM

Н.И. Царев, В.И. Царев, И.Б. Катраков

ПРАКТИЧЕСКАЯ ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Учебно-методическое пособие
для студентов химического факультета по спецкурсу
«Газохроматографические методы анализа»

Издательство Алтайского государственного университета
Барнаул • 2000

БК 543

УДК 543.544.25 (07)

Царев Н.И., Царев В.И., Катраков И.Б. Практическая газовая хроматография: Учебно-методическое пособие для студентов химического факультета по спецкурсу «Газохроматографические методы анализа». — Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2000. — 156 с.

Представленное пособие является основой спецкурса «Газохроматографические методы анализа», проводимым с 1991 года на кафедре органической химии Алтайского государственного университета. В сборнике представлены методические материалы по газожидкостной хроматографии.

В сборнике использован опыт проведения и организации аналогичного курса в Московском институте повышения квалификации специалистов химической промышленности и его Дзержинском филиале, а так же современные направления в газохроматографическом анализе.

В первой части (главы I-III) изложены материалы по основам газовой хроматографии, аппаратурному оснащению метода, перечислены факторы, влияющие на хроматографическое разделение веществ. Во второй части (главы IV-V) рассмотрены приемы качественного и количественного анализа, приведены практические работы.

Предназначено для студентов химических факультетов университетов, медико-биологических специальностей медицинских университетов.

Табл. 12. Рис. 34. Библиогр.: 18 назв. Прилож. 3.

Рецензенты:

Карташов В.А., доктор фарм. наук, профессор, зав. кафедрой
фармацевтической химии АГМУ

Долматова Л.А., канд. хим. наук, научный сотрудник Института водных
и экологических проблем СО РАН (г. Барнаул)

Печатается по решению кафедры органической химии.

Утверждено на заседании кафедры « 13 » апреля 2000 года

© Царев Н.И., Царев В.И., Катраков И.Б., 2000

© Алтайский государственный университет, 2000

Глава I. ВВЕДЕНИЕ В ГАЗОВУЮ ХРОМАТОГРАФИЮ

1.1 ОСНОВЫ МЕТОДА

Хроматография [гр. chrōmatos – цвет + graphō – пишу] — метод разделения, анализа и физико-химических исследований веществ, основанный на перемещении зоны вещества вдоль слоя сорбента в потоке подвижной фазы с многократным повторением сорбционных и десорбционных актов. При этом разделяемые вещества распределяются между двумя несмешивающимися фазами (в зависимости от их относительной растворимости в каждой фазе): подвижной и неподвижной.

Газовая хроматография — хроматография, в которой подвижная фаза находится в состоянии газа или пара — инертный газ (газ-носитель). Неподвижной фазой (НЖФ) является высокомолекулярная жидкость, закрепленная на пористый носитель или на стенки длинной капиллярной трубки.

Газовая хроматография — универсальный метод разделения смесей разнообразных веществ, испаряющихся без разложения. При этом компоненты разделяемой смеси перемещаются по хроматографической колонке с потоком газа-носителя. По мере движения разделяемая смесь многократно распределяется между газом-носителем (подвижной фазой) и нелетучей неподвижной жидкой фазой, нанесенной на инертный материал (твердый носитель), которым заполнена колонка. Принцип разделения — неодинаковое сродство веществ к летучей подвижной фазе и стационарной фазе в колонке. Компоненты смеси селективно задерживаются последней, поскольку растворимость их в этой фазе различна, и таким образом разделяются (компонентам с большей растворимостью требуется большее время для выхода из жидкой фазы, чем компонентам с меньшей растворимостью). Затем вещества выходят из колонки и регистрируются детектором. Сигнал детектора записывается в виде хроматограммы автоматическим потенциометром (самописцем) или же регистрируется компьютером.

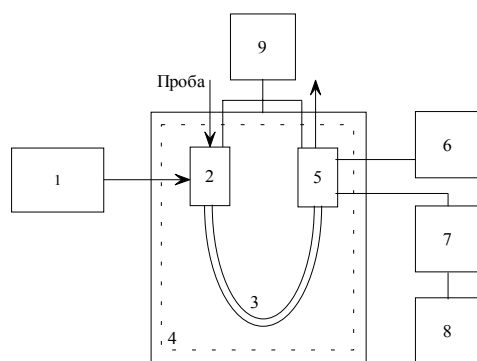
Хроматография один из наиболее распространенных физико-химических методов исследования. Хроматографические методы широко

используются в химии и биохимии, находят применение в химической, нефтехимической, металлургической, фармацевтической, пищевой и других отраслях промышленности. С повышением экологических требований к среде обитания, продуктам питания, лекарствам естественно находят свое отражение в исследовании охраны окружающей среды и медицине, а также в других областях науки и промышленности. Круг решаемых задач и практическое использование хроматографии непрерывно расширяется.

1.2 ПРИНЦИПИАЛЬНАЯ СХЕМА ГАЗОВОГО ХРОМАТОГРАФА

Газовый хроматограф представляет собой прибор, использующий принцип хроматографии в системах газ–адсорбент или газ–жидкость. В аппаратном оформлении это совокупность нескольких самостоятельных, параллельно функционирующих систем: источник газа-носителя и блок подготовки газов, испаритель, термостат колонок и сами хроматографические колонки, детектор, система регистрации и обработки данных. Типичная блок-схема газового хроматографа изображена на рисунке 1.

Система подготовки газов служит для установки, стабилизации и очистки потоков газа-носителя и дополнительных газов. Она включает блок регулировки расходов газов, обеспечивающий очистку, подачу и



стабилизацию скорости и расхода газа-носителя в колонку, а также других газов, необходимых для работы детектора, например, воздуха и водорода для пламенно-ионизационного детектора.

Система дозирования позволяет вводить в поток газа-носителя определенное количество анализируемой смеси в газообразном или

Рисунок 1 – Принципиальная схема газового хроматографа:

1 – система подготовки газов; 2 – система дозирования; 3 – колонка; 4 – система термостатирования; 5 – система детектирования; 6 – блок питания детектора; 7 – усилитель сигнала детектора; 8 – регистратор (самописец, компьютер); 9 – измерители режима хроматографа (расход газов, стабилизация температур и электрического питания детекторов)

Газовые функциональные связи показаны стрелками, электрические – одинарной линией, термостатируемые элементы заключены в пунктирный контур.

жидком состоянии. Представляет собой устройство с самоуплотняющейся резиновой мембраной или кран-дозатор. Устройство ввода пробы необходимо термостатировать при температуре, равной температуре колонки или выше на 20 – 30°C.

Система детектирования преобразует соответствующие изменения физических или физико-химических свойств бинарных смесей (компонент — газ-носитель по сравнению с чистым газом носителем) в электрический сигнал. Величина сигнала зависит как от природы компонента, так и от содержания его в анализируемой смеси.

Система термостатирования служит для установки и поддержания рабочих температур термостатов колонок (до 350°C), испарителя, детектора и других узлов хроматографа.

Система регистрации преобразует изменения физико-химических параметров в электрический сигнал, величина и форма которого регистрируются на ленте самописца или в современном варианте — на мониторе компьютера. Прибор должен быть снабжен соответствующим **электрометрическим усилителем**, обеспечивающим получение на выходе электрического сигнала, пропорционального концентрации определяемого компонента в газе-носителе, выходящем из колонки.

Система инструментальной обработки данных позволяет вести управление экспериментом и обработку результатов в диалоговом режиме. С помощью компьютерных программ, имеющих алгоритм распознавания и сформированных банков данных, можно решать задачи расшифровки сложных хроматограмм и количественного определения компонентов.

Рассмотренная схема типична для обычного газового хроматографа, используемого в количественном анализе, однако газовый хроматограф может иметь гораздо более сложную схему, содержащую несколько колонок и детекторов, включающий автоматические устройства для подготовки и дозирования пробы.

Помимо этих общих основных элементов дополнительное оснащение газового хроматографа определяется его назначением: он может служить в качестве универсального аналитического прибора, для изучения физико-химических величин, в качестве универсального аналитического анализатора для контроля за составом смесей и для регулирования производственного процесса или в качестве анализатора элементного состава органических соединений. Во всех случаях для надежного функционирования прибора необходимо подбирать соответствующие газы, параметры электрической схемы, насадочные или капиллярные колонки, приспособления для закрепления колонок в термостате и устройства для отбора и внесения проб в дозатор.

1.3 СУЩНОСТЬ И КЛАССИФИКАЦИЯ МЕТОДОВ ХРОМАТОГРАФИИ

В основу той или иной классификации хроматографических методов могут быть положены различные характерные признаки процесса. При этом следует учитывать, что существуют промежуточные варианты, не укладывающиеся в рамки строгой классификации. Более того, именно такие промежуточные варианты часто оказываются весьма перспективными и даже единственно возможными для решения сложных задач анализа.

Разнообразные варианты хроматографии укладываются в относительно простую схему классификации *в зависимости от используемой подвижной фазы и характера межмолекулярных взаимодействий* (табл. 1–3).

Таблица 1 – Классификация вариантов хроматографии по фазовым состояниям

Подвижная фаза	Неподвижная фаза	Название метода
Газ	Адсорбент Жидкость	Газоадсорбционная Газожидкостная
Жидкость	Адсорбент Жидкость	Жидкостно-адсорбционная Жидкость-жидкостная
Газ или пар в сверхкритическом состоянии	Адсорбент Жидкость	Флюидно-адсорбционная Флюидно-жидкостная
Коллоидная система	Сложная композиция твердых и жидких компонентов	Полифазная хроматография

Таблица 2 – Варианты хроматографии по характеру взаимодействий

Механизм процесса разделения	Вариант хроматографии
По размеру молекул	Ситовая
За счет физической адсорбции или растворения	Молекулярная
За счет ионного обмена	Ионообменная
За счет водородных связей, химического сродства и др.	Хемосорбционная

В зависимости от способа перемещения сорбатов вдоль слоя сорбента различают: проявительный (элюационный), фронтальный, вытеснительный методы и электрохроматографию.

Таблица 3 – Варианты хроматографии по способу проведения процесса

Способ проведения	Вариант хроматографии
В цилиндрическом слое сорбента	Колоночная
В слое сорбента на плоской поверхности	Планарная
В пленке жидкости или слое сорбента, размещенном на внутренней стенке трубки	Капиллярная
В полях электрических, магнитных, центробежных и других сил	Хроматография в полях сил

Проявительный (элюационный) метод заключается в том, что сорбаты переносятся через сорбционный слой потоком вещества (элюента), сорбирующегося хуже любого из сорбатов. В ходе проявительного анализа разделенные компоненты анализируемой смеси выходят из хроматографической колонки в потоке элюента отдельными зонами, между которыми (при достаточно четком разделении) из колонки выходит чистый элюент.

Основные преимущества проявительного метода заключаются в следующем:

1) при выборе соответствующих условий компоненты могут быть, практически полностью, изолированы друг от друга и будут находиться лишь в смеси с элюентом;

2) сорбент непрерывно регенерируется элюентом, поэтому после выхода наиболее сильно сорбирующегося компонента пробы может быть немедленно начато исследование следующей смеси;

3) если концентрация исследуемого компонента соответствует линейному участку изотермы сорбции, то время элюирования компонента при заданных условиях является постоянной величиной, которая может быть использована для целей идентификации.

К недостаткам метода относится необходимость использования значительных количеств элюента.

Проявительный анализ можно проводить как при постоянной температуре (изотермическая хроматография), так и при изменении температуры сорбента в процессе анализа по заданной программе (хроматография с программированием температуры). В последнем случае изменяется сорбционная емкость сорбента.

Фронтальный метод заключается в непрерывном пропускании исследуемой смеси через слой сорбента. При этом на сорбенте образуются зоны, содержащие последовательно увеличивающееся число компонентов, а из колонки вначале выходит порция наименее сорбирующегося вещества. Фронтальный анализ применялся на ранних стадиях развития

хроматографии, когда еще не были достаточно разработаны методы детектирования. В настоящее время он используется редко и практически совсем не применяется для целей количественного анализа. Это объясняется тем, что при фронтальном анализе ни один из компонентов смеси не отделяется полностью от остальных. Если после полного проявления концентрационного профиля при фронтальном анализе прекратить подачу пробы и начать промывку колонки чистой подвижной фазой, то фронтальный анализ превратится в вариант проявительной хроматографии с очень большой пробой.

Кривая элюирования будет повторять в обратном порядке кривую фронтального анализа; последняя ступень будет соответствовать относительно чистому последнему (наиболее сильно удерживаемому) компоненту.

Вытеснительный метод заключается в переносе разделяемой смеси потоком вещества (вытеснителя), сорбирующегося сильнее любого из компонентов смеси. В ходе вытеснительного анализа образуются отдельные примыкающие друг к другу зоны компонентов, которые располагаются в порядке увеличения их сорбируемости. Порядок элюирования компонентов характеризует их физико-химические свойства, а ширина полосы (не высота!) пропорциональна концентрации данного компонента.

Вытеснительный анализ как метод разделения имеет весьма ограниченное применение и крайне редко используется в количественном анализе. Это объясняется тем, что в результате описанного процесса не получается дискретных локальных полос индивидуальных соединений.

Электрохроматография — хроматографический процесс, при котором движение заряженных частиц осуществляется под действием приложенного напряжения. Скорость движения частиц определяется их массой и зарядом.

В зависимости от природы процесса, обуславливающего распределение сорбатов между подвижной и неподвижной фазами, различают адсорбционную, распределительную, ионообменную, осадочную, аффинную и эксклюзионную хроматографию (табл. 2).

Элементарным актом в адсорбционной хроматографии является адсорбция; разделение основано на различии в адсорбируемости компонентов смеси на данном адсорбенте.

В **распределительной** хроматографии — растворение; разделение основано на различии в растворимости сорбатов в подвижной и неподвижной фазах или на различии в стабильности образующихся комплексов.

В **ионообменной** хроматографии — на различии констант ионообменного равновесия.

В **осадочной** хроматографии — на различной растворимости осадков в подвижной фазе.

В **аффинной** — на биоспецифическом взаимодействии компонентов с аффинным лигандом, ковалентно связанным с нерастворимым носителем. Лигандами могут выступать, например, ингибиторы, кофакторы, субстраты, а носителями — силикаты, полиалкиламиды, декстрины, целлюлоза, хитин, крахмал.

В **эксклюзионной** хроматографии разделение основано на различии в проницаемости молекул разделяемых веществ в неподвижную фазу (в случае гель-хроматографии неподвижной фазой служит гель) и обусловлено размерами этих молекул. Компоненты элюируются в порядке уменьшения их молекулярной массы.

К промежуточным методам относится хроматография на модифицированном сорбенте (газо-жидко-твердофазная), основанная на том, что неподвижной фазой служит твердый адсорбент, модифицированный небольшим количеством жидкости. В этом случае играют роль как адсорбция на поверхности газ–твердое тело (и, в определенной степени, — на поверхности жидкость–твердое тело), так и растворимость в жидкости. Существуют и другие промежуточные варианты.

Жидкостная хроматография — хроматографический процесс, в котором подвижной фазой является жидкость (табл. 1). В жидкостно-жидкостной хроматографии и подвижной и неподвижной фазами являются жидкости.

В **жидкостно-адсорбционной** хроматографии неподвижной фазой служит твердый адсорбент, а подвижной — жидкость.

В зависимости от цели проведения хроматографического процесса различают аналитическую, неаналитическую, препаративную и промышленную хроматографию.

Аналитическая хроматография предназначена для определения качественного и количественного состава исследуемых смесей. Существуют два основных метода хроматографического определения состава смесей:

- 1) метод выходной кривой, основанный на непрерывном определении свойства выходящего из колонки потока как функции времени или объема пропущенного вещества;
- 2) метод слоя, заключающийся в определении изменения свойства смеси по длине сорбционного слоя.

Неаналитическая хроматография — метод исследования физико-химических характеристик веществ при использовании хроматографической аппаратуры и на основании параметров хроматографических зон.

Препаративную хроматографию применяют для выделения небольших количеств чистых компонентов в лабораторных условиях.

Промышленную хроматографию используют для получения чистых веществ в значительных количествах.

Разумеется, приведенная выше классификация хроматографических методов не может считаться исчерпывающей. Так в газовой хроматографии широкое распространение получили комплексные (гибридные) методы. Из них наиболее важными являются реакционная (реакторная) газовая хроматография (сочетание химических превращений и хроматографического процесса) и хромато–масс-спектрометрия (последовательное соединение хроматографической колонки и масс-спектрометра с получением полных или частичных масс-спектров для каждого из компонентов исследуемой смеси).

Поскольку настоящий курс посвящен газовой хроматографии, следует кратко отметить особенности этого метода. К достоинствам газовой хроматографии можно отнести:

- 1) возможность идентификации и количественного определения индивидуальных компонентов сложных смесей;
- 2) возможность изучения различных свойств веществ и физико-химических взаимодействий в газах, жидкостях и на поверхности твердых тел;
- 3) высокую четкость разделения и быстроту процесса, обусловленную низкой вязкостью подвижной фазы;
- 4) возможность использования микропроб и автоматической записи получаемых результатов, обусловленную наличием высокочувствительных и малоинерционных приборов для определения свойств элюата;
- 5) возможность анализа широкого круга объектов — от легких газов до высокомолекулярных органических соединений и некоторых металлов;
- 6) возможность выделения чистых веществ в препаративном и промышленном масштабе.

1.4 ХРОМАТОГРАММА

Каждому компоненту смеси на хроматограмме соответствует отдельный **пик** — максимум регистрируемого сигнала детектора или концентрации компонента хроматографируемой смеси в элюенте. Кривую

зависимости сигнала детектора от объема газа-носителя или от времени называют **хроматограммой** (элюционной кривой). В зависимости от типа используемого детектора получают дифференциальные (рис. 2, а) и интегральные хроматограммы (рис. 2, б).

На дифференциальной хроматограмме различают следующие составные части: **нулевую линию 1** – участок хроматограммы, полученной при регистрации сигнала дифференциального детектора во время выхода из колонки чистого газа-носителя; **пик 2** – несорбирующегося компонента; **пик 3** – участок хроматограммы, полученной при регистрации сигнала детектора во время выхода из колонки одного из определяемых компонентов (или смеси нескольких неразделенных компонентов). Пик ограничивается **фронтом**, соответствующим возрастанию концентрации компонента до максимальной, и **тылом**, отвечающим убыванию концентрации компонента в газе-носителе.

Расширение полосы компонента по мере прохождения ее через колонку, ведущее к получению широкого хроматографического пика, называют **размытием пика**. Размытие может быть симметричным и асимметричным. В последнем случае образуется пик либо с размытым фронтом, либо с размытым тылом. Об этом мы поговорим в разделе 5.2.

Исходными экспериментальными данными, с помощью которых выполняется качественный газохроматографический анализ, являются элюционные характеристики.

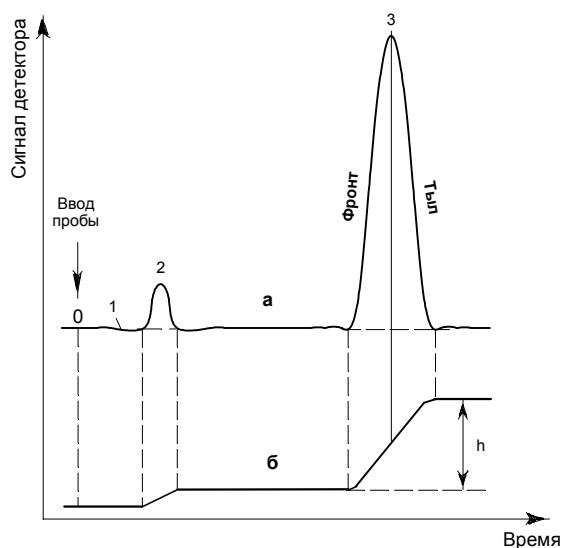


Рисунок 2 – Дифференциальная (а) и интегральная (б) хроматограммы:

1 – нулевая линия; 2 – пик несорбирующегося вещества; 3 – пик определяемого компонента

1.5 ЭЛЮЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1.5.1 Первичные параметры удерживания

К числу первичных параметров удерживания относятся: время удерживания, объем удерживания и соответствующий им отрезок на хроматограмме — расстояние удерживания (рис. 3).

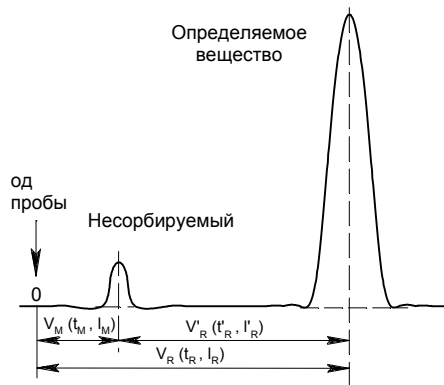
Время удерживания (t_R) — это время, прошедшее от момента ввода пробы до выхода максимума концентрации определяемого компонента. Время удерживания экспериментально определяется по секундомеру либо с помощью интегратора или системы автоматизации анализа (САА) и измеряется в минутах и секундах (п'п'').

Расстояние удерживания (l_R) — это расстояние на хроматограмме от момента ввода пробы до выхода пика определяемого компонента. Измеряется на хроматограмме с помощью линейки от линии старта до вершины пика (в мм). Расстояние удерживания — непредставительная величина, так как она зависит от скорости перемещения диаграммной ленты и от других факторов.

Удерживаемый объем (V_R) — это объем газа-носителя (в см³), прошедший через хроматографическую колонку от момента ввода пробы до момента выхода максимальной концентрации определяемого вещества, измеренный при давлении и температуре на выходе из колонки. Объем удерживания находят по уравнению:

$$V_R = t_R \cdot F_{об}, \quad (1)$$

где $F_{об}$ — объемная скорость газа-носителя, см³/мин — объем газа-носителя, протекающего за единицу времени через пенный расходомер, т.е. на выходе из колонки и при температуре колонки.



При наличии специальных блоков точного задания и измерения расхода газа-носителя, с табло этих приборов снимаются показания скорости газа-носителя. Если их нет — расход замеряется с помощью мыльно-пленочного

Рисунок 3 — Типичная дифференциальная хроматограмма индивидуального вещества и несорбируемого газа.

измерителя (см. раздел 3.1.3). Поэтому при вычислении удерживаемых объемов следует использовать значение объемной скорости, учитывающей температуру колонки и давление водяного пара при температуре измерения:

$$F_{об} = F_{изм} \cdot \frac{T_K}{T_{cp}} \cdot \left(1 - \frac{P_{H_2O}}{P_B} \right) \quad (2)$$

где $F_{изм}$ – измеренная объемная скорость, см³/мин; T_K – температура колонки, К; T_{cp} – температура окружающей среды, К; P_{H_2O} – давление насыщенных паров воды при температуре измерения, Па; P_B – атмосферное (барометрическое) давление, Па.

Перечисленные параметры, при условии использования одной и той же температуры опыта и скорости газа-носителя, являются качественной характеристикой анализируемых веществ в данных условиях на одном и том же приборе. Поэтому ими можно пользоваться для выполнения качественного анализа, только используя один и тот же прибор, строго соблюдая неизменность режима его работы.

Для сопоставления получаемых значений первичных параметров удерживания с литературными данными или полученными на другом приборе или в иных условиях (для той же неподвижной фазы и температуры колонки) необходимо помнить, что на них влияют следующие факторы:

- а) свойства и количества НЖФ (адсорбента в газоадсорбционной хроматографии и сорбента в ГЖХ), причем в газожидкостной хроматографии влияет отдельно и НЖФ, и твердый носитель;
- б) температура колонки и скорость газа-носителя;
- в) конструктивные особенности применяемой аппаратуры;
- г) перепад давления газа-носителя на входе и выходе колонки.

Чтобы исключить влияние некоторых факторов на первичные параметры удерживания, используют следующую группу параметров.

1.5.2 Исправленные и приведенные параметры удерживания

Исправленное время удерживания (t'_R) — время, прошедшее с момента появления пика несорбирующегося газа до появления пика соответствующего соединения:

$$t'_R = t_R - t_M \quad (3)$$

t_M — времени удерживания несорбируемого компонента (иногда употребляют термин «*мертвое*» *время удерживания*). Исправленное

время удерживания t'_R отвечает времени, в течение которого элюируемое вещество находится в неподвижной фазе (в растворенном или сорбированном состоянии). В газовой подвижной фазе все вещества, независимо от времени удерживания, проводят одно и то же время, равное t_M — поправка на объем колонки, занимаемый газовой фазой, объем дозатора, детектора и соединительных газовых линий.

Для экспериментального определения t_M необходимо измерить время удерживания какого-либо несорбируемого соединения, отличного от газа-носителя. В случае работы с катарометром можно за t_M взять время выхода пика воздуха. При работе с ДИПом можно приравнять t_M к времени удерживания метана. Если в лаборатории нет метана, можно воспользоваться временами удерживания трех n -алканов и сделать расчет по следующей формуле:

$$t_M = \frac{t_{Cz+1} \cdot t_{Cz-1} \cdot t_{Cz}^2}{t_{Cz+1} + t_{Cz-1} - 2t_{Cz}} \quad (4)$$

где t_{Cz-1} ; t_{Cz} ; t_{Cz+1} — времена удерживания соответственно трех последовательных членов гомологического ряда n -алканов.

Отношение приведенного времени удерживания к «мертвому» времени называется **коэффициентом емкости (извлечения) k** :

$$k = \frac{t'_R}{t_M} \quad (5)$$

Это отношение является характеристикой продолжительности нахождения молекул анализируемого соединения в неподвижной фазе относительно времени их пребывания в подвижной газовой фазе.

Исправленное расстояние удерживания — расстояние от пика несорбирующегося газа (l_M) до максимума выхода пика соответствующего компонента (l_R).

$$l'_R = l_R - l_M, \quad (6)$$

Исправленный удерживаемый объем (V_R^0) рассчитывается по формуле:

$$V_R^0 = V_R \cdot j \quad (7)$$

$$j = \frac{3 \cdot (P_{\text{вх}}/P_{\text{вых}})^2 - 1}{2 \cdot (P_{\text{вх}}/P_{\text{вых}})^3 - 1} \quad (8)$$

где j – поправочный коэффициент, учитывающий перепад давления в колонке (коэффициент сжимаемости); $P_{ВХ}$ – давление на входе в колонку; $P_{ВЫХ}$ – давление на выходе из колонки.

Исправленные объемы удерживания можно сравнить в том случае, если они получены на одной и той же колонке при прочих равных условиях, но давление на входе в колонку может различаться, поскольку в приведенную выше формулу входит поправка на перепад давления.

При $P_{ВХ} \rightarrow P_{ВЫХ}$ V_R^0 становится равна предельному значению V_R .

Приведенный удерживаемый объем (V'_R) — объем удерживания, пересчитанный с учетом поправки на объем удерживания несорбируемого газа V_M («мертвый» объем колонки, учитывающий свободные объемы колонки, дозатора, детектора и соединительных линий):

$$V'_R = V_R - V_M = F_{об} \cdot (t_R - t_M) \quad (9)$$

Приведенные объемы удерживания можно сравнить в том случае, если они получены на одной и той же колонке или на разных колонках, но при одинаковом перепаде давления, так как поправка на перепад давления не вводится.

Приведенный объем удерживания, исправленный с учетом перепада давления, называется **эффективным (чистым) удерживаемым объемом V_N** :

$$V_N = V'_R \cdot j = F_{об} \cdot (t_R - t_M) \cdot j = (V_R - V_M) \cdot j \quad (10)$$

Таким образом, эффективный объем удерживания не зависит от «мертвого объема», приведен к среднему давлению в колонке, но зависит от количества сорбента, измеренного при температуре T_K . Эту зависимость можно исключить, учитывая количество жидкой фазы в колонке или поверхность адсорбента. Тогда получаем принципиально новые параметры.

1.5.3 Абсолютные параметры удерживания

Удельный удерживаемый объем (V_g^T) при температуре колонки T (K) равен чистому объему удерживания, отнесенному к единице массы неподвижной жидкой фазы в колонке:

$$V_g^T = \frac{V_N}{m_{ж}} \quad (11)$$

где V_N – чистый объем удерживания; $m_{ж}$ – масса НЖФ в колонке, г.

Итак, для ГЖХ *абсолютный удельный удерживаемый объем* рассчитывается по формуле:

$$V_g^0 = V_g^T \cdot \frac{273}{T_k} = (t_R - t_M) \cdot F_{изм} \cdot \frac{T_k}{T_{cp}} \cdot \left(1 - \frac{P_{H_2O}}{P_{выж}}\right) \cdot j \cdot \frac{273}{m_{ж} \cdot T_k} \quad (12)$$

Этот параметр является такой же характерной константой, как температура плавления (кипения), показатель преломления и плотность, связывающей термодинамические функции сорбции со строением и физико-химическими свойствами веществ. В справочной литературе приводятся данные по удельным удерживаемым объемам различных веществ на различных фазах. Используя эти данные, можно проводить качественный анализ.

Абсолютный удельный объем удерживания является наиболее полно скорректированной характеристикой удерживания и обладает наилучшей сопоставимостью по сравнению со всеми иными абсолютными характеристиками удерживания. Однако в практике качественного газохроматографического анализа этим параметром пользуются редко, т.к. выполнить точный расчет V_g^0 трудно (девять параметров входят в состав уравнения и сложно определить их все с высокой точностью). Поэтому в повседневной практике получила большее распространение другая группа параметров — относительные параметры удерживания.

1.5.4 Относительные параметры удерживания

Относительное время удерживания ($t_R^{отн}$) — отношение удельного или чистого времени удерживания (t'_{R_i}) данного соединения к соответствующему времени удерживания соединения выбранного в качестве стандарта ($t'_{R_{ст}}$):

$$t_R^{отн} = \frac{t'_{R_i}}{t'_{R_{ст}}} \quad (13)$$

Относительный удерживаемый объем ($V_R^{отн}$) — отношение приведенного, чистого или удельного объема удерживания данного соединения к соответствующему объему удерживания соединения, выбранному в качестве стандарта:

$$V_R^{отн} = \frac{V'_{R_i}}{V'_{R_{ст}}} = \frac{V_{R_i}}{V_{R_{ст}}} = \frac{V_{g_i}^0}{V_{g_{ст}}^0} \quad (14)$$

где V'_{Ri} – приведенные объем удерживания исследуемого соединения; V'_{Rct} – приведенные объем удерживания вещества, принятого за стандарт; V_{Ri} – чистый объем удерживания компонента i ; V_{Rct} – чистый объем удерживания стандарта; V^0_{gi} – удельный объем удерживания компонента i ; V^0_{gst} – удельный объем удерживания стандарта.

Стандартом может быть любое вещество, однако в большинстве случаев используются либо нормальные парафины, либо бензол, либо вещество, принадлежащее к тому же классу, что и определяемое.

Относительные величины удерживания не зависят от количества сорбента в колонке, от объема колонки, занятого газовой фазой, от перепада давления в колонке, от скорости газа-носителя. Они зависят только от природы анализируемого вещества, стандарта и сорбента, а так же от температуры колонки, поэтому используются для идентификации и публикуются в виде таблиц, как в оригинальной литературе, так и в справочниках.

Точность определения относительных величин параметров удерживания выше, чем абсолютных, а трудоемкость определения гораздо ниже. Еще удобнее определять параметры удерживания относительно двух n -алканов, один из которых имеет меньшее, другой большее время удерживания, чем определяемое соединение. При этом появляется возможность представлять данные об относительных величинах удерживания в форме так называемых интерполяционных параметров удерживания, из которых наибольшее распространение получили индексы удерживания.

Индекс удерживания Ковача I , характеризующий удерживание вещества x в колонке неподвижной фазой при температуре t ($^{\circ}\text{C}$) относительно двух n -алканов с числом углеродных атомов n и $n + 1$, рассчитывается путем линейной интерполяции логарифмов исправленных параметров удерживания:

$$I_{t, ^{\circ}\text{C}}^{H.f.}(x) = 100 \cdot \left[\frac{\lg t'_R(x) - \lg t'_R(n)}{\lg t'_R(n+1) - \lg t'_R(n)} + n \right] \quad (15)$$

при соблюдении условия: $t'_{R(n)} \leq t'_{R(x)} \leq t'_{R(n+1)}$.

Главным достоинством системы индексов удерживания является ее наглядность. По определению n -алканам приписываются значения индексов удерживания, равные числу углеродных атомов в молекуле, умноженному на 100 ед. Например, для метана – 100, пропана – 300, декана – 1000 и т.д. Водороду приписывают значение индекса равное нулю. Эти числа и образуют в шкале индексов удерживания серию фиксированных точек. Из рисунка 4 следует, что индекс удерживания определяемого

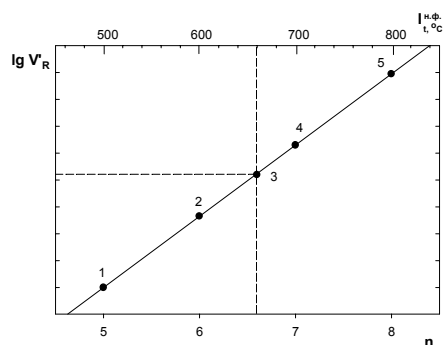


Рисунок 4 – Графическое определение индексов удерживания Ковача:

1, 2, 4, 5 – *n*-алканы (стандарты);
3 – анализируемое соединение.

вещества x равен умноженному на 100 ед. числу атомов углерода n гипотетического нормального алкана, имеющего такое же исправленное время (расстояние или объем) удерживания, что и вещество x .

Графическое определение индексов удерживания не обеспечивает необходимой точности результатов, и поэтому при выполнении ответственных анализов рекомендуется находить индексы расчетным путем.

Индексы удерживания являются весьма информативной и удобной формой представления данных по относительному удерживанию органических соединений различных классов и в настоящее время широко используется в качественном анализе для решения сложных задач, как, например, идентификация компонентов нефти или исследование запаха пищевых продуктов.

Поскольку численное значение индексов Ковача определяется лишь физико-химическими свойствами анализируемого вещества, природой неподвижной фазы и температурным режимом колонки, индекс удерживания вещества той или иной неподвижной фазой, отнесенный к определенной температуре, можно поставить в ряд с такими известными константами, как температура кипения (плавления), плотность или показатель преломления.

Воспроизводимость и правильность измерений всех перечисленных параметров зависят от класса применяемой аппаратуры, опыта оператора и его квалификации. Основные ошибки, вызывающие погрешности измерений, возникают по следующим причинам:

- а) нестабильность температурного режима колонок, испарителя и скорости газа-носителя;
- б) перегрузка колонки за счет большой дозы, немгновенность дозирования;
- в) несинхронность операции дозирования и включения средств измерения времени удерживания или отметки начала ввода пробы.

При выполнении качественного анализа нужно стремиться исключить ошибки измерения или свести их к минимуму.

Глава II.

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ ВЕЩЕСТВ

2.1 ТЕОРИЯ ТАРЕЛОК

Всегда появляется потребность оценки хроматограмм. При прохождении через колонку можно получить хроматограммы различного вида (рис. 5). Данные примеры иллюстрируют хроматографическое разделение, отличающиеся разрешением, эффективностью при равной селективности (рис. 5, а и б) и селективностью при равной эффективности (рис. 5, в и г). Это сохраняется и при различном соотношении высоты пиков. Все теории хроматографического разделение сводятся к рассмотрению этих величин.

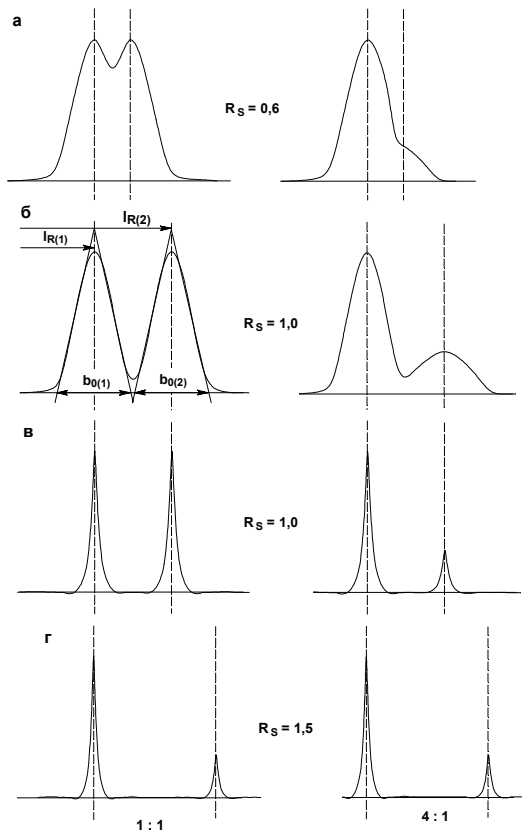


Рисунок 5 – Разрешение различных пар хроматографических пиков:

R_s – разрешение; I_R – расстояние удерживания для 1 и 2 компонента смеси; $b_{0(1)}$ и $b_{0(2)}$ – ширина пика у его основания для 1 и 2 компонента.

2.1.1 Эффективность

Прохождение зоны вещества через колонку всегда сопровождается ее размытием. В итоге ухудшается разделение компонентов смеси. Таким образом, с точки зрения конечного результата, т.е. определения компонентов пробы, размывание является нежелательным процессом и должно сводиться к минимуму. Основным параметром, определяющим размывание компонентов при ее прохождении через колонку, является эффективность.

Под *эффективностью* в хроматографии понимают способность системы "предотвращать" (ограничивать) размывание зон разделяемых веществ. Эффективность колонки тем выше, чем уже пик получается при том же времени удерживания, и измеряется числом теоретических тарелок.

Число теоретических тарелок характеризует число ступеней установления равновесия распределения вещества между подвижной и неподвижной фазами, и описывается уравнением:

$$n = 16 \cdot (l_R / b_0)^2 = 5,54 \cdot (l_R / b_{0,5})^2, \quad (16)$$

где l_R – расстояние удерживания, мм; b_0 и $b_{0,5}$ – ширина пика у основания, и на половине его высоты соответственно, мм.

Это уравнение используется для определения эффективности главным образом насадочных колонок. Эффективность же капиллярных колонок оценивается *числом эффективных теоретических тарелок*:

$$N = 16 \cdot (l'_R / b_0)^2 = 5,54 \cdot (l'_R / b_{0,5})^2, \quad (17)$$

где l'_R – исправленное расстояние удерживания, мм.

Число теоретических тарелок n , соответствующее данной колонке, не является достаточной характеристикой хроматографического разделения, поскольку это число не зависит от размеров разделительной системы (длины колонки). В связи с этим *высоту, эквивалентную теоретической тарелке (ВЭТТ)*, можно определить как толщину сорбционного слоя, необходимую для того, чтобы раствор, поступивший из предыдущего слоя, пришел в равновесие со средней концентрацией растворенного вещества в подвижной фазе этого слоя. Такая характеристика лучше определяет эффект хроматографического разделения. Таким образом, *эффективность хроматографической системы* с использованием набивных хроматографических колонок описывается величиной ВЭТТ:

$$\text{ВЭТТ (H)} = L / n, \quad (18)$$

где ВЭТТ или H – высота, эквивалентная теоретической тарелке, мм; L – длина системы в направлении перемещения подвижной фазы (длина хроматографической колонки), мм; n – число теоретических тарелок.

Аналогично в капиллярной хроматографии используется **высота, эквивалентная эффективной теоретической тарелке**:

$$H_{\text{эф}} = L / N, \quad (19)$$

Она также выражается в единицах длины.

Чем больше n (или N), тем выше эффективность, тем меньше размывание полосы по мере прохождения ее через колонку и соответственно уже пик на выходе из колонки. Система считается эффективной, если 1 м колонки имеет 1000 теоретических тарелок, т.е. при $H = 1$ мм. Увеличивая в два раза длину колонки, мы увеличиваем степень разделения в $\sqrt{N}$ раз.

Зная число теоретических тарелок n , приходящиеся на колонку и ее длину L , а также средний диаметр зерна сорбента, легко получить значение **приведенной высоты, эквивалентной теоретической тарелке**:

$$\text{ПВЭТТ } (h) = H / d_c, \quad (20)$$

где d_c – средний диаметр зерна сорбента, мм.

ПВЭТТ является более общей характеристикой качества колонки, чем ВЭТТ. Она исключает зависимость H от диаметра частиц насадки d_c и является безразмерной величиной.

Имея значения n , H и h можно легко сравнить эффективность колонок разных типов, разной длины, заполненных разными по природе и зернению сорбентов.

Сравнивая число теоретических тарелок двух хроматографических колонок, сравнивают их эффективность. При сравнении ВЭТТ оценивают колонки с сорбентами одинакового зернения, но имеющие разную длину. Наконец, величины ПВЭТТ для двух любых колонок (независимо от длины колонок, зернения сорбента и его природы) позволяют оценить качество сорбента, во-первых, и качество заполнения колонок, во-вторых.

Представление о тарелке привнесено в хроматографию из теории дистилляции, так как первые наиболее эффективные дистилляционные колонны содержали приспособления, названные тарелками. Было предложено представлять хроматографическую систему как некоторое число воображаемых, или теоретических, тарелок.

Теория тарелок основана на следующих допущениях:

- коэффициенты распределения K постоянны;
- диффузия в направлении потока пренебрежимо мала;
- скорость установления равновесия между растворенным веществом и двумя фазами достаточно велика по сравнению со скоростью движения подвижной фазы;
- систему следует рассматривать как прерывную (дискретную), состоящую из множества элементарных объемов, в каждом из которых устанавливается свое равновесие.

В общем случае первое приближение обычно верно, в то время как другие не особенно важны. Теория скоростей, основанная на моделях непрерывного потока для хроматографических систем, является более точным приближением, чем теория тарелок. Однако, теория тарелок, оперирующая более простым математическим аппаратом, позволяет получить практически аналогичные результаты.

В соответствии с классическими представлениями размывание зон определяется тремя, считающимися независимыми, факторами: неравномерностью движения потока подвижной фазы, молекулярной диффузией и тем, что система не достигает состояния равновесия. Отражает этот подход уравнение Ван-Деемтера.

2.1.2 Уравнение Ван-Деемтера

Влияние скорости газа-носителя U на высоту, эквивалентную теоретической тарелке, показано на рисунке 6, который является графическим представлением уравнения Ван-Деемтера. В упрощенной форме это уравнение имеет вид:

$$H = A + \frac{B}{U} + C \cdot U \quad (21)$$

Постоянная A учитывает неравномерность движения потока подвижной фазы и называется вихредиффузионным членом. Она описывает зависимость высоты тарелки от неоднородностей потока через пористую структуру набивки колонки. В большинстве практических приложений этот член может быть аппроксимирован следующим уравнением:

$$A = 2 \cdot \lambda \cdot d_p, \quad (22)$$

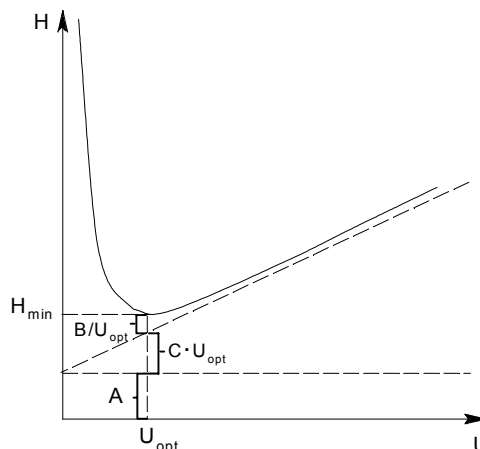
где d_p – средний диаметр частиц насадки, λ – безразмерная константа, зависящая от равномерности заполнения колонки.

Согласно уравнению Ван-Деемтера вклад фактора вихревой диффузии наибольший. Для снижения этого фактора необходимо заполнять колонку, по возможности, сорбентом с одинаковыми по форме зернами.

Рисунок 6 – Графическое представление уравнения Ван-Деемтера

Член А равен нулю для капиллярных колонок, которые не содержат набивки, а имеют открытое поперечное сечение. В результате уравнение Ван-Деемтера принимает вид, известный как уравнение Голя:

$$H = \frac{B}{U} + C \cdot U \quad (23)$$



Второй член, B/U , учитывает расширение полосы, вызванное продольной диффузией молекул растворенного вещества в газовой фазе во время пребывания их в колонке. Для параметра B , отражающего вклад молекулярной диффузии в общий диффузионный процесс (при условии что он протекает в среде, заполненной зернистым материалом), существует зависимость:

$$B = 2 \cdot \gamma \cdot D_g, \quad (24)$$

где γ – коэффициент извилистости набивки колонки (для диатомитовых носителей в пределах 0,5–0,7); D_g – коэффициент молекулярной диффузии растворенного вещества в газе-носителе.

Для уравнения (23) член B выражается следующим образом:

$$B = 2 \cdot D_g, \quad (25)$$

Коэффициент диффузии в газовой фазе можно предсказать по молекулярным массам и объемам компонента и газа-носителя.

Третий член уравнения, $C \cdot U$, является наиболее существенным фактором при определении эффективности колонки в практических условиях. Он выражает сопротивление массопереносу в колонке, препятствующее мгновенному установлению равновесия молекул растворенного вещества между газом-носителем и НЖФ. Параметр C может быть представлен в виде суммы двух членов:

$$C = C_g + C_l, \quad (26)$$

где C_g и C_l относятся к сопротивлению массопереносу в газообразной фазе и жидкой фазе соответственно.

Выражения для этих величин, найденные теоретически, приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Значения С-членов для набивных и капиллярных колонок

С-член	Набивные колонки	Капиллярные колонки
C_g	$\frac{\omega \cdot d_p^2}{D_g}$	$\frac{1+6k+11k^2}{24 \cdot (1+k)^2} \cdot \frac{r^2}{D_g}$
C_l	$\frac{2k}{3 \cdot (k+1)^2} \cdot \frac{d_f^2}{D_l}$	$\frac{k}{6 \cdot (1+k)^2} \cdot \frac{d_f^2}{D_l}$

Примечание – ω – постоянная, зависящая от структуры набивки колонки и коэффициента относительного распределения; D_g и D_l – коэффициенты диффузии растворенного вещества в газовой и жидкой фазах соответственно; d_p – диаметр частиц; r – диаметр капиллярной колонки; d_f – толщина пленки жидкости; k – коэффициент относительного распределения (коэффициент извлечения).

Коэффициенты А, В и С являются постоянными для данной хроматографической системы.

Рисунок 6, часто называемый ВЭТТ–U кривой, показывает взаимодействие различных параметров, определяющих высоту тарелки в зависимости от скорости газа-носителя. Гипербола имеет минимальное значение $H_{\min}$, при котором колонка имеет максимальную эффективность. Она достигается при оптимальной скорости $U_{\text{опт}}$. На практике, однако, работают со скоростями, превышающими $U_{\text{опт}}$, чтобы получить более быстрое разделение. При этих условиях эффективность колонки определяется членом С уравнения Ван-Деемтера. Данные таблицы 4 показывают, что малая толщина пленки НЖФ d_f , т.е. низкая нагрузка твердого носителя неподвижной фазой, приводит к низким значениям C_l . С другой стороны, C_g можно понизить, уменьшая диаметр частиц твердого носителя или уменьшая диаметр капиллярной колонки.

Ценность уравнения Ван-Деемтера в том, что с его помощью можно определить условия, позволяющие свести к минимуму размывание зон и, следовательно, достичь максимального разрешения.

Так вихревую диффузию сводят к минимуму, добиваясь однородной набивки колонки и используя частицы сорбента с малыми размерами. Применительно к колоночной хроматографии было найдено, что величина λ уменьшается с уменьшением диаметра колонки. Для ограничения диффузии в подвижной фазе и, следовательно, соответствующего члена в уравнении, также следует использовать мелкодисперсные частицы и стремиться к однородному заполнению колонки.

В соответствии с физическим смыслом второго члена уравнения Ван-Деемтера для уменьшения N следует использовать высокую скорость подвижной фазы. Целесообразно также применять тонкий слой НЖФ, чтобы уменьшить расстояние, проходимое молекулами вещества в неподвижной жидкой фазе перед тем, как оно достигнет поверхности и перейдет в подвижную фазу. Желательно применять частицы сорбента малого размера, чтобы достичь более плотного заполнения и уменьшить объем подвижной фазы, через которую перемещается вещество перед тем, как перейти в неподвижную фазу.

В соответствии с физическим смыслом члена уравнения Ван-Деемтера, характеризующего массоперенос, для уменьшения величины N необходимо уменьшить скорость потока подвижной фазы.

Из уравнения Ван-Деемтера вытекает ряд противоречащих друг другу требований. Так уменьшение величины диффузии для предотвращения размывания зоны вещества сочетается с необходимостью увеличения диффузии для поддержания равновесия. Использование мелкодисперсных частиц положительно сказывается на хроматографических характеристиках, но ограничивает скорость движения подвижной фазы. Для предотвращения продольной диффузии необходима высокая скорость подвижной фазы, что ухудшает протекание процессов массообмена. Наконец, рекомендации по применению тонких пленок неподвижной жидкой фазы приходят в противоречие с тенденцией к использованию больших количеств НЖФ.

Для уменьшения величины N на практике подбирают оптимальные условия. Размер частиц сорбента выбирают таким, чтобы скорость подвижной фазы удовлетворяла условиям разделения. В конкретной хроматографической системе величину N можно изменять, только изменяя скорость движения подвижной фазы. Как видно из рисунка 6, график зависимости N от скорости потока имеет минимум. Это объясняется тем, что диффузия вносит преобладающий вклад в величину N при низких скоростях потока, в то время как влияние массопереноса преобладает при высоких скоростях.

Отмечено, что высота тарелки зависит от относительного распределения k . Поэтому эффективность колонки, измеренная с помощью компонентов с различными временами удерживания, может иметь различные значения. Кроме того, уширение полосы пика может происходить и вне колонки: например, при неудачном вводе пробы и в соединительных линиях между колонками и детектором. Необходимо свести к минимуму длину и диаметр таких соединительных линий.

При использовании насадочных колонок оптимальная средняя линейная скорость газа-носителя U_{opt} и минимальная высота, эквивалентная теоретической тарелке, H_{min} , определяются согласно уравнениям:

$$U_{\text{opt}} = \sqrt{B/C} \quad (27)$$

$$H_{\text{min}} = A + 2\sqrt{B \cdot C} \quad (28)$$

2.1.3 Селективность

В то время как теория тарелок описывает распределение одного растворенного вещества в системе, селективность является мерой взаимного распределения двух или более определяемых веществ в ходе хроматографического процесса.

Хроматографическое разделение основывается на селективности сорбента и различиях в термодинамических свойствах анализируемых веществ по отношению к хроматографической системе. Таким образом, **селективность** является мерой относительного удерживания или относительной подвижности двух веществ.

Удерживание вещества, характеризуемое временем удерживания, или подвижностью, пропорционально величине соответствующего коэффициента распределения. Коэффициент распределения зависит от физико-химических свойств определяемого вещества, неподвижной и подвижной фаз. Следовательно, для того чтобы разделение стало возможным, достаточно подобрать подвижную и неподвижную фазы, обеспечивающие по крайней мере незначительную разницу в коэффициентах распределения. Таким образом, основным требованием к любой хроматографической системе является различие в коэффициентах распределения разделяемых веществ, т.е.:

$$K_1 \neq K_2 \quad (29)$$

Селективность зависит не только от природы двух фаз, но и от их относительных количеств. **Коэффициент равновесного распределения K** можно определить как отношение концентраций вещества в подвижной (C_s) и неподвижной (C_m) фазах:

$$K = C_s / C_m \quad (30)$$

При постоянстве K изменение количества одной из фаз, обычно подвижной, влечет за собой соответствующее изменение в распределении определяемого вещества и, как следствие, во времени элюирования, поскольку изменяется количество вещества в подвижной фазе.

Для пары веществ селективность можно определить как расстояние между центрами зон на хроматограмме, которому соответствует разность в объемах удерживания ΔV :

$$\Delta V = V_2 - V_1 = (V_m + K_2 \cdot V_s) - (V_m + K_1 \cdot V_s) = \Delta K \cdot V_s, \quad (31)$$

где ΔV – селективность; V_s – общий объем неподвижной жидкой фазы; V_m – общий объем подвижной фазы системы (свободный, или мертвый, объем).

Как видно из уравнения (29), селективность пропорциональна разнице в коэффициентах распределения и количеству неподвижной жидкой фазы. Если хроматографические фазы уже выбраны, ΔK при определенной температуре является фиксированной величиной, и разделение центров зон можно улучшить, только изменяя величину V_s . Объем неподвижной жидкой фазы можно изменять, варьируя размеры хроматографической системы, например ее длину, или увеличивая количество НЖФ на единицу объема. Таким образом, ΔV можно увеличить, увеличивая площадь поверхности адсорбента, повышая содержание жидкой фазы в распределительной системе.

В газовой хроматографии селективность определяется природой неподвижной фазой и выражается **фактором селективности** (относительным удерживанием):

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = \frac{l'_{R2}}{l'_{R1}}, \quad (32)$$

где $t'_{R2} > t'_{R1}$ или $l'_{R2} > l'_{R1}$. Поэтому α равен или больше 1.

2.1.4 Степень разделения

Решающим моментом при разработке газохроматографического анализа является определение величины **степени газохроматографического разделения**, необходимой для достижения цели. Оценка степени разделения двух компонентов рассчитывается следующим образом:

$$R = \frac{2 \cdot (t_{R2} - t_{R1})}{b_{0(1)} + b_{0(2)}} = \frac{2 \cdot \Delta l_R}{b_{0(1)} + b_{0(2)}} = \frac{2 \cdot \Delta V_R}{b_{0(1)} + b_{0(2)}} \quad (33)$$

где R – степень разделения; $b_{0(1)}$ и $b_{0(2)}$ – ширина пика у основания для 1 и 2 компонента соответственно; Δt_R , Δl_R и ΔV_R – разность соответственно времен, расстояний и объема удерживания для разделяемых веществ 1 и 2.

Для практической работы удобнее использовать следующее определение степени разделения, так как у неполностью разрешенных пиков ширина при основании определяется с большой погрешностью, тогда как

их ширину на половине высоты чаще всего можно определить непосредственно:

$$K_S = \frac{\Delta t_R}{b_{0,5(1)} + b_{0,5(2)}} = \frac{\Delta l_R}{b_{0,5(1)} + b_{0,5(2)}} \quad (34)$$

где $b_{0,5(1)}$ и $b_{0,5(2)}$ – ширина пика на половине его высоты для 1 и 2 компонента соответственно.

Связь между этими двумя критериями дается соотношением:

$$K_S = 0,848 \cdot R \quad (35)$$

Для соседних пиков одинаковых размеров разрешение можно представить как:

$$K_S = \Delta l_R / 2 \cdot b_{0,5} \quad (36)$$

$$\text{или} \quad R = \Delta V_R / b_0 \quad (37)$$

Объединяя уравнения (29) и (35) получаем:

$$R = \Delta K \cdot V_s / b_0 \quad (38)$$

Разделение центров зон будет соответствовать разрешению только в том случае, если вводимые в хроматографическую систему пробы будут иметь исчезающе малый объем, чтобы пики имели малую ширину. В ходе продвижения зоны по хроматографической системе под действием ряда факторов происходит ее размывание (уширение). Разрешение зависит как от разделения центров зон, так и от ширины зон, так что разрешение можно улучшить, уменьшая ширину зон и увеличивая расстояние между их центрами. Таким образом, разрешение является функцией как селективности, так и ширины зон.

В практической хроматографии большое значение имеет уравнение, устанавливающее связь *величины степени разделения от параметров колонки*:

$$R_S = \underbrace{\frac{\sqrt{n}}{4}}_{\text{эф-ть}} \cdot \underbrace{\left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right)}_{\text{селект-ть}} \cdot \underbrace{\left(\frac{k}{k + 1} \right)}_{\text{емкость}} \quad (39)$$

где n – эффективность колонки, выражаемая числом теоретических тарелок; α – фактор селективности; k – коэффициент извлечения (коэффициент емкости).

Разделение, таким образом, определяется произведением трех сомножителей: первый выражает зависимость от селективности колонки

(уравнение 32), второй – от коэффициента емкости колонки (уравнение 5), третий – от эффективности колонки (уравнение 16).

Рассмотрим уравнение (39) подробнее.

Первый сомножитель показывает, что достигаемое разделение пропорционально корню квадратному из числа теоретических тарелок n , т.е. для увеличения разделения вдвое нужно увеличить эффективность колонки в 4 раза. Например, увеличить длину колонки в 4 раза, при этом время анализа увеличивается также в 4 раза.

Если $\alpha = 1$, то $R_S = 0$, т.е. разделения нет независимо от числа теоретических колонок n . Однако из характера функции α в уравнении видно, что наибольшее изменение могут привести к заметному увеличению разделения, особенно для тех случаев, когда значения α близки к 1. Если за счет подбора условий разделения удастся изменить α с 1,1 до 1,2, это приводит к улучшению разделения в два раза. Очевидно, что значимым членом является селективность системы.

Если емкость колонки (третий сомножитель) принимает значение $k = 0$, то $R_S = 0$, т.е. разделение отсутствует – оба разделяемых компонента элюируются как несорбируемые вещества (взаимодействия с НЖФ отсутствует). С ростом значения k степень разделения возрастает, при этом скорость анализа уменьшается.

Как правило, если эффективность колонки недостаточна, а скорость анализа – важный фактор, то идут следующим путем. Для увеличения эффективности используют колонку с более мелким по зернистости сорбентом, хотя при этом увеличивается и давление в колонке.

Следует отметить, что эффективность колонки меньше влияет на разделение, чем селективность и коэффициент емкости, тем не менее повышению эффективности придается большое значение.

Для пары веществ, пики которых на хроматограмме не слишком отличаются по высоте (соотношение высот от 3:1 до 1:3), удовлетворительным считается удовлетворительным $R_S = 1,0$ (рис. 5, б и в). При выполнении точных анализов желательным является значение $R_S = 1,2-1,5$ (рис. 5, г). В большинстве случаев не требуется $R_S > 1,5$, т.к. это приводит к увеличению продолжительности анализа. В случае, когда $R_S \leq 0,8$ (рис. 5, а), считается разделение недостаточным (плохим).

При анализе более сложных смесей критерий разделения устанавливают для наиболее трудно разделяемых пар компонентов смеси и здесь уже важным фактором является эффективность колонки.

В капиллярной хроматографии уравнение (39) принимает вид:

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \quad (40)$$

где

$$N = n \cdot \left(\frac{k}{k+1} \right)^2 \quad (41)$$

Другой метод оценки эффективности колонки является число разделений TZ (от нем. *Trennzahl*) или SN (от англ. separation number). Эта величина также нашла широкое применение в капиллярной хроматографии. **Число разделений** определяется как разделение двух соседних членов гомологического ряда, как правило, неразветвленных алканов, различающихся одной CH_2 -группой, и рассчитывается по уравнению:

$$TZ = \left(\frac{t_{R(z+1)} - t_{R(z)}}{b_{0,5(z+1)} + b_{0,5(z)}} \right) - 1 \quad (42)$$

Число разделений и величина разрешения R_S связаны между собой следующим образом:

$$TZ = \frac{R_S}{1,777} - 1 \quad (43)$$

Другими словами, число разделений — это максимальное число пиков, которые могли бы быть разделены между двумя соседними гомологами в данной части хроматограммы. Поэтому когда приводят TZ , необходимо привести еще и коэффициент емкости, и диапазон индексов удерживания. Для двух различных колонок соответствующие значения TZ нельзя сравнивать механически.

Преимуществом величины TZ является применение ее в условиях программирования температуры и существование зависимости с индексами удерживания Ковача (уравнение 15), которая выражается следующим уравнением:

$$TZ = \frac{100}{\Delta I} - 1 \quad (45)$$

2.1.5 Выбор температуры

На селективность α очень сильно оказывает влияние температура, а на эффективность n — влияет скорость потока газа-носителя. С увеличением температуры снижается α , но при этом повышается эффективность. Температуру в испарителе необходимо поддерживать не ниже температуры высококипящего компонента смеси.

Влияние температуры на хроматографическое разделение:

1. С увеличением температуры время анализа уменьшается (время 1–2 мин, но не более 10 мин);
2. С увеличением температуры адсорбционные процессы уменьшаются;
3. С увеличением температуры селективность α уменьшается (увеличение температуры на 30°C приводит к уменьшению k в 2 раза);
4. Увеличение селективности α на 2% снижает требование к эффективности в 4 раза;
5. Чем больше количество НЖФ на твердом носителе, тем необходимо больше держать температуру (при приближении к максимально возможной температуре НЖФ необходимо выбрать температуру на 3–5% ниже).

2.2 ГАЗЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ХРОМАТОГРАФИИ

В подавляющем большинстве случаев применяются газы, сжатые до давления 15 МПа и содержащиеся в баллонах емкостью 40 л. В случаях, когда невозможно или трудно транспортировать стальные баллоны с газами, применяются электролитические или химические генераторы водорода, кислорода, углекислого газа и др. Если в качестве газаносителя необходимо использовать водяной пар, то его следует получать кипячением дистиллированной воды при заданной температуре непосредственно в приборе.

Аргон обычно поставляют достаточно чистым, и поэтому он не нуждается в дополнительной очистке. Применять аргон в качестве газаносителя выгодно, поскольку он не взрывоопасен и сравнительно дешев.

Ламповый **азот**, применяемый в хроматографии, имеет степень чистоты, равную 99,99% поэтому он также не нуждается в дополнительной очистке. То же относится и к гелию: в случае использования детектора по теплопроводности или пламенно-ионизационного детектора этот газ не нужно дополнительно очищать. Однако в случае применения гелиевого ионизационного детектора газ не должен содержать даже следов примесей.

Электролитический **водород** удобен для хроматографии и также поставляется в баллонах или генерируется непосредственно в лабораторном электролизере. Степень его чистоты обычно равна 99,8%, что вполне достаточно для рутинной работы. При более высоких требованиях, предъявляемых к чистоте, водород необходимо освобождать от остатков кислорода и от влаги. Из-за очень низкой вязкости водорода перед началом работы необходимо проверить все соединения и полностью устранить все неплотности. В качестве газаносителя водород рекомендуется

применять до температуры 250°C, а в случае работы при более высоких температурах этот газ лучше заменить гелием.

Что касается вспомогательных газов, то *кислород* и *воздух* обычно подвергают дополнительной сушке; если воздух отбирается из компрессора, то на его пути устанавливают еще и фильтр для улавливания компрессорного масла. Технический *углекислый газ* также содержит большое количество масла, а иногда и следы метана.

Очистка газов

Применяемые газы содержат примеси в ничтожно малых концентрациях. Присутствие этих примесей чаще всего не влияет на процесс разделения, однако, они оказывают вредное действие на неподвижную фазу, находящуюся в колонке. Кислород и водяной пар при температурах выше 100°C разлагают полигликоли, полиэфиры и некоторые силиконовые фазы, что приводит к изменению термостойкости и хроматографических свойств неподвижных фаз. Органические примеси даже в ничтожно малых концентрациях вносят искажения при проведении анализа с программированием температуры. На стадии охлаждения колонки эти вещества накапливаются в ее начале и по мере повышения температуры мигрируют к ее концу. Иногда эти примеси могут выходить с анализируемыми компонентами и при пониженных концентрациях последних даже маскировать их. Поэтому все примеси рекомендуется удалять из применяемых газов физическими или химическими методами.

К первой группе этих методов относится адсорбция и конденсация при низких температурах или их комбинация. Для этой цели подходят все адсорбенты с большой удельной поверхностью, такие, как активированный уголь, силикагель и молекулярные сита. При достаточном снижении температуры (до -80 – -190°C) происходит интенсивная адсорбция или капиллярная конденсация примесей. Однако уровень хладагента необходимо постоянно поддерживать на одинаковой высоте, поскольку колебания уровня вызывают изменение давления и потока очищенного газа. Перед загрузкой в линию очистки адсорбенты следует активировать нагреванием, по крайней мере, до 350°C.

Для осушки и испарения кислых примесей (CO₂, SO₂) в настоящее время применяют молекулярные сита. Они обладают большой емкостью (до 30% от собственной массы), способностью адсорбировать воду даже при температурах выше температуры ее кипения и легко регенерируются. Для осушения и задерживания следов органических примесей подходят все типы молекулярных сит, применяемых в хроматографии (5A, 10X,

13X), а для удаления только воды хорошо зарекомендовали себя молекулярные сита 3А и 4А с диаметром пор менее 0,4 нм.

Кислород, водород, углекислый и ряд других газов обычно удаляют химическими методами. Наиболее подходящими для этой цели являются каталитические реакции, протекающие в условиях умеренных температур. Для снижения содержания кислорода в водороде или в газах, содержащих водород, рекомендуется использовать палладиевый катализатор, работающий уже при комнатной температуре. Образующаяся при этом вода улавливается молекулярным ситом. Для удаления кислорода из газов, не содержащих водород, необходимо либо добавлять водород, либо применять медный, марганцевый или никелевый катализаторы, для которых оптимальная рабочая температура составляет 20–100°C. Диоксид углерода, метан и другие углеводороды, содержащиеся в виде следов, удаляют на медном или никелевом катализаторе в оксидной форме, нагреванием до 600°C.

2.3 НЕПОДВИЖНЫЕ ЖИДКИЕ ФАЗЫ

Неподвижная жидкая фаза — это фаза, определяющая селективные взаимодействия между компонентами пробы и твердым носителем, т.е. определяет последовательность выхода из колонки и отношение времен удерживания максимумов их зон, а также характер размывания хроматографических зон.

Выбор неподвижной жидкой фазы может оказаться наиболее важным шагом для получения требуемых хроматографических данных.

При выборе НЖФ принимаются во внимание следующие свойства:

- химическая стойкость и инертность;
- низкое давление пара при температуре колонки;
- достаточные коэффициенты разделения;
- достаточная селективность по отношению к компонентам пробы, которые должны быть разделены;
- низкая вязкость;
- хорошая растворимость в каком-либо летучем растворителе;
- доступность.

2.3.1 Классификация неподвижных жидких фаз

Поскольку нет единого параметра, с помощью которого можно было бы описать характеристики удерживания жидкой фазы, для классификации различных неподвижных жидких фаз используют понятие полярности. На практике полярные и неполярные фазы, а также фазы про-

межуточной полярности различаются без придания точного значения этим выражениям. Вообще говоря, чем больше полярность жидкой фазы, тем больше удерживание полярного растворенного вещества по сравнению с неполярным, имеющим одну и ту же температуру кипения. Полярность неподвижной жидкой фазы связана со степенью полярности полярных или поляризуемых функциональных групп и отношением таких групп к молекуле растворенного вещества. Полные характеристики неподвижных фаз даны в справочнике [6].

Неподвижные фазы классифицируют *по характеру межмолекулярного взаимодействия фаза–вещество* (табл. 5).

Таблица 5 – Классификация неподвижных фаз в зависимости от вида их функциональных групп.

I тип	II тип	III тип
Неполярные насыщенные (возможны только дисперсионные взаимодействия)	Полярные с локально концентрированными отрицательными зарядами, π -связями, свободными электронными парами при атомах N и O (доноры электронов)	Полярные с локально концентрированными положительными и отрицательными зарядами (акцепторы и доноры электронов)
Апиезоны (L,M,J,N,T,H) <i>n</i> -Гексадекан ($C_{16}H_{34}$) Парафиновое масло Сквалан ($C_{30}H_{62}$) <i>n</i> -Тетракозан ($C_{24}H_{50}$)	Адипинаты Нитрилы Нитрилоэфиры Полифенилы Себацинаты Сквалан Стеараты Сукцинаты Трикрезилфосфат Фталаты Эфиры полиэтиленгликоля	Гидроксиламины Гликоли Глицерин Диглицерин Инозит Пентаэритрит Сорбит Полиэтиленгликоли

Следующая классификация неподвижных фаз *по максимально допустимой рабочей температуре* (МДРТ):

- органическая НЖФ до 200°C;
- кремнийорганическая до 350°C.

Важным моментом при выборе необходимой для работы неподвижной жидкой фазы являются верхний и нижний пределы рабочих температур. Верхний предел температуры колонки обычно определяется величиной испарения, которая является результатом медленного уноса жидкой фазы потоком газа-носителя. Чем выше давление пара НЖФ, тем

выше скорость истечения ее при данной температуре скорости потока. Этот процесс является нежелательным, поскольку может нарушить правильное функционирование детектора; приводит к постепенному уносу неподвижной жидкой фазы из колонки, изменяя тем самым величины удерживания исследуемых компонентов. Унос НЖФ из колонки вызывает смещение нулевой линии при режиме работы с программированием температуры. Во многих случаях, обычно для полимерных неподвижных жидких фаз, химическое разложение ограничивает максимальную рабочую температуру, которое возникает вследствие окисления микропримесей кислорода, присутствующими в газе-носителе или в результате реакции, катализируемой примесями или активными центрами поверхности твердого носителя.

Максимальная рабочая температура обычно предоставляется фирмой-поставщиком. Тем не менее, к этим данным следует относиться критически и максимальная рабочая температура устанавливается экспериментально. Нижний предел температуры — это обычно точка плавления жидкой фазы. Замечено, однако, что с понижением температуры эффективность колонки может существенно упасть в результате понижения диффузии анализируемого вещества в жидкой фазе вследствие увеличения вязкости неподвижной жидкой фазы.

Для выражения *полярности жидкой фазы* разработано несколько классификаций. Предложенная Роршайдером система оценки селективности фаз может быть использована для определения взаимозаменяемости фаз и для оценки взаимодействия. Она основана на шкале полярности, в которой полярности сквалана (неполярной фазы) и β,β' -оксидипропионитрила (высокополярной фазы) приняты за 0 и 100 соответственно. Относительная полярность фазы выражается числом, так называемым *индексом полярности*, который получают путем интерполяции логарифма удерживания бутадиена (полярное растворенное вещество), измеренного с данной фазой между значениями, полученными при измерениях со стандартными.

Существует множество неподвижных жидких фаз с близкими свойствами. С этой точки зрения можно сказать, что число НЖФ, применяемых на практике, слишком велико и подавляющее большинство задач разделения можно решить, используя десяток жидких фаз. Кроме того, эффективного решения поставленной задачи хроматографического анализа позволяет добиться использование смешанного сорбента.

Для практического решения поставленной задачи обычно используют один из следующих способов:

1. применение составных колонок, заполненных различными по полярности сорбентами;
2. нанесение на твердый носитель одновременно двух различных неподвижных жидких фаз в определенном соотношении;
3. заполнение колонки смесью двух заранее приготовленных сорбентов.

Константы Мак-Рейнольдса — система для характеристики НЖФ по измерениям их селективности относительно сквалана. Их можно использовать для:

- 1) сравнения двух НЖФ, предназначенных для разделения одной группы соединений (предпочтительна фаза с более высокой МДРТ);
- 2) поиска неподвижной фазы, которая селективно удерживает данное соединение или группу соединений.

Некоторые характеристики наиболее распространенных НЖФ приведены в таблице 6.

Поиски оптимальных неподвижных фаз привели к их увеличению. Поэтому в последнее время придается значение колонкам с бинарными сорбентами.

При выборе неподвижной фазы необходимо учитывать правило «подобное растворяет подобное, а противоположное разделяет». В зависимости от объекта исследования селективность рассматривают в трех аспектах:

- 1) селективность как способность к разделению каких-либо двух компонентов (например, близкокипящих изомеров);
- 2) селективность как способность к разделению компонентов одного гомологического ряда;
- 3) селективность как способность к разделению компонентов двух или нескольких гомологических рядов.

2.3.2 Типы неподвижных фаз для капиллярной хроматографии

Для получения качественных капиллярных колонок необходимо, чтобы унос фазы из колонки был низким. Многие фирмы, специализирующиеся на выпуске колонок, сами выпускают НЖФ. Однако результаты анализов, выполненных с использованием аналогичных НЖФ, могут не совпадать. Поэтому кроме названия типа колонки указывается и производитель.

Таблица 6 – Характеристика некоторых распространенных неподвижных жидких фаз.

Полярность, %	Название	МДРТ, °С	Применение
Неполярные 0–20	Сквалан (C ₃₀)	120	Для разделения ароматических соединений, неполярных алифатических, смеси полярных и неполярных соединений
	Апиезон (C ₆₂)	300	
	Аполан (C ₈₇)	260	
	ПМС (Россия)	200	
	SE-30 (США)	350	
Малополярные 20–40	OV-101 (США)	300	Для разделения слабополярных кислородсодержащих и ароматических соединений
	E-301 (Англия)	250	
	Эфиры терефталевой кислоты (фталаты)	100–180	
	Полипропиленгликоли (ППГ)	100–200	
	ПФМС-4 (Россия)	280	
Среднеполярные 40–60	ХЕ-61	300	Для разделения углеводородов с большим содержанием ароматических колец
	DC-550 (США)	225	
	OV-17 (США)	300	
	Кремний органические жидкости с привитыми CN-группами НСКТ, ХЕ-1150, OV-225 (США)	до 250	
	Полиэтиленгликоли		
Полярные 60–80	ПЭГ-20М (Россия)	225	Для разделения кислородсодержащих соединений
	Карбовакс-20М	250	
	Полиэтиленглюколь-адипинат (ПЭГА)	200	
	Реоплекс-400	200	
Сильнополярные, 80–100	1,2,3-Трис-(β-цианэтокси)пропан	180	Для анализа сильнополярных соединений
	Гексацианэтиловый эфир маннита (6С)	200	

Для достижения стабильной работы НЖФ иммобилизуют путем *сшивки* и/или *прививки*. Первый процесс приводит к образованию более устойчивой макромолекулярной пленки, второй — к химическому прикреплению НЖФ к поверхности капиллярной трубки.

Колонки со сшитыми фазами (в отличие от несшитых) можно промывать растворителями с целью регенерации. Как правило сшитые фазы имеют более широкий диапазон рабочих температур, чем у аналогичных несшитых. Сшивкой также удастся снизить унос фазы из колонки.

Как показывает опыт, эффективность капиллярных колонок с неполярной НЖФ, как правило, выше, чем у колонок с полярными фазами.

Примеры неподвижных жидких фаз, наиболее часто используемых, приведены в таблице 7.

2.3.3 Выбор количества неподвижной фазы

Как правило, количество НЖФ составляет 5–40 г на 100 г твердого носителя. При этом необходимо учитывать температуру кипения анализируемых веществ. Для легкокипящих веществ содержание НЖФ составляет 15–25%, для тяжелых сорбатов — 2–5%.

Содержание НЖФ для капиллярных колонок колеблется от 0,1 до 20% внутренней поверхности капилляра, в зависимости от задаваемой толщины пленки.

С повышением содержания НЖФ у сорбентов:

- повышается селективность;
- уменьшается адсорбционный эффект (симметричные пики);
- увеличивается емкость колонки.

При понижении содержания НЖФ у сорбентов:

- эффективность разделения повышается (из уравнения Ван-Деемтера);
- с повышением температуры в меньшей степени увеличивается фоновый ток (меньше унос фазы);
- возрастает скорость анализа;
- возможно работать при более высоких температурах.

2.3.4 Методы нанесения неподвижной жидкой фазы

Метод «испарения из чашечки»

В коническую колбу берут необходимую навеску НЖФ (рассчитывая в зависимости от веса исходного твердого носителя и заданного содержания) на аналитических весах. Рассчитанное количество НЖФ растворяют в легкокипящем растворителе, который должен растворять НЖФ во всех соотношениях. Объем растворителя должен быть таким, чтобы в него полностью погружался обрабатываемый твердый носитель. Равномерно перемешивая образовавшуюся суспензию шпателем, растворитель испаряют вначале при невысокой температуре (на водяной бане). Затем, когда насадка станет сыпучей и исчезнет запах растворителя, ее досушивают при более высокой температуре (70–100°C) несколько часов (3–4 ч) в сушильном шкафу, чтобы избежать неравномерности нанесения пленки НЖФ. После высушивания сорбент охлаждают в эксикаторе.

Таблица 7 – Некоторые традиционные неподвижные жидкие фазы, используемые в капиллярных колонках.

Состав	Название НЖФ	Полярность	Определяемые вещества	Диапазон температур, °С	Растворитель
C ₃₀ H ₆₂ (2,6,10,15,19,23-гексаметилтетракозан)	Сквалан	неполярная	Алифатические вещества	20–150	хлороформ, ацетон
Полидиметилсилоксаны (каучук)	OV-1, SE-30, СКТ	– // –	Фенолы, углеводороды, амины, серо-содержащие соединения, пестициды, полихлорированные бензолы	-60–325	хлороформ
Полидиметилсилоксаны (вязкая жидкость)	OV-101, SP-2100	– // –	Производные аминокислот, эфирные масла	0–280	хлороформ
Сложная смесь алифатических, алициклических и ароматических углеводородов	Апиезон-L	– // –	Барбитураты, спирты, углеводороды, алкалоиды, эфиры жирных кислот, азотсодержащие соединения	50–300	гексан, толуол, ацетон
Полифенил(5%)диметил-силоксаны	SE-52, SE-54, OV-23	– // –	Жирные кислоты, метиловые сложные эфиры, алкалоиды, лекарственные препараты, галогенсодержащие соединения	60–325	толуол, хлороформ, ацетон
Полициано(14%)пропил-фенилсилоксаны	OV-1701	средняя	Лекарственные средства, стероиды, пестициды	-20–280	ацетон
Полифенил(50%)метил-силоксаны	OV-17, ПФМС-4	– // –	Лекарственные средства, стероиды, пестициды, гликоли	20–240	толуол, хлороформ
Циано(50%)пропил-метилфенил(50%)илоксаны	OV-225	– // –	Жирные кислоты, метиловые сложные эфиры, ацетаты алдитола	60–240	ацетон
Политрифторпропил(50%)-метилсилоксаны	OV-210, ФС-169	– // –	Галогенсодержащие и ароматические соединения	45–240	хлороформ, ацетон
Полиэтиленгликоли	Карбовакс 20М, ПЭГ	полярная	Свободные кислоты, спирты, простые эфиры, эфирные масла, гликоли, растворители	60–220	хлороформ
Полиэтиленгликольфталаты	SP-2100	– // –	Кислоты, спирты, альдегиды, кетоны, акрилаты, нитрилы	60–240	хлороформ, ацетон

Сушка может иногда приводить к окислению НЖФ. Другой недостаток этого метода — твердый носитель покрывает НЖФ неравномерно. Иногда НЖФ не попадает в узкие поры, из которых не уходит полностью воздух. Для устранения указанных недостатков, рекомендуется наносить НЖФ из раствора в вакууме, во вращающейся колбе (или при покачивании колбы рукой). При этом уменьшается также и механическое дробление частиц твердого носителя. Сорбент, полученный подобным методом, практически не стареет.

Фильтрационный метод

Основной вариант этого метода заключается в том, что твердый носитель смешивают с раствором НЖФ, при этом устанавливается равновесное распределение НЖФ между раствором жидкой фазы и поверхностью твердого носителя. Затем суспензию переносят на фильтр, растворитель отсасывают, а мокрый сорбент сушат сначала на воздухе, потом в сушильном шкафу.

Фильтрационный метод целесообразно применять при приготовлении сорбентов с низкими концентрациями НЖФ от 1% до 3%. Количество НЖФ, оставшейся на твердом носителе зависит от концентрации ее в растворе и от коэффициента адсорбции молекул НЖФ на границе раздела раствора НЖФ и твердого носителя.

Метод достаточно быстр, однако для определения фактического содержания НЖФ на сорбенте требуется проведение дополнительных экспериментов — либо прямых (экстракция, выжигание), либо косвенных (используя предварительное установление зависимости между концентрацией НЖФ в растворителе и величиной адсорбции ее из раствора на данном твердом носителе).

Фронтальный метод

Метод основан на пропускании раствора НЖФ через колонку, заполненную твердым носителем. Для осуществления этого метода раствор НЖФ медленно пропускают через хроматографическую колонку до установления равновесия между сорбированным количеством НЖФ на твердом носителе и подаваемым раствором НЖФ. После установления равновесия (следует пропустить объем раствора фазы в 2–3 раза больший, чем объем твердого носителя). Растворитель удаляют нагреванием колонки под вакуумом в слабом токе инертного газа.

Концентрация НЖФ на твердом носителе в этом методе может быть приблизительно определена при взвешивании колонки с исходным твердым носителем и колонки после удаления растворителя. преимуще-

ство метода в том, что в колонку не попадают частички твердого носителя, не покрытые НЖФ (как это бывает при заполнении колонки готовым сорбентом при постукивании, когда возможно размельчение хрупкого сорбента). Особенно целесообразно применение этого метода при использовании носителей с непористой внешней поверхностью (стеклянные и металлические шарики, стальные порошки и др.). Недостаток метода связан с завышением содержания НЖФ в выходящей части колонки и с понижением — во входной.

Приготовление сорбента в «кипящем слое» (противоточный метод)

Этот метод лишен некоторых недостатков предыдущих методов. Суть метода в том, что на твердый носитель, находящийся в состоянии кипящего слоя, наносится раствор жидкой фазы в легкокипящем растворителе. Необходимое для приготовления сорбента количество твердого носителя помещают на пористую пластинку и осторожно подают азот (во избежании опасности выброса), контролируя его расход по пузырькам, барбатирующим через склянку Дрекселя или Тищенко с серной кислотой. Затем на твердый носитель осторожно выливают раствор НЖФ (объем раствора должен быть на 20–25% больше объема взятого твердого носителя), снова регулируют расход газа, стремясь к тому, чтобы наблюдалось умеренное «кипение» частиц твердого носителя в растворе НЖФ. При этом частицы твердого носителя, прилипшие к стенкам сосуда, следует сбрасывать вниз шпателем.

У данного метода три преимущества — хорошее перемешивание, отсутствие дробления и одновременное удаление мелких частичек твердого носителя. Колонки с сорбентом, приготовленным в кипящем слое, имеют большую эффективность, чем колонки с НЖФ, нанесенной из раствора другим способом.

На испарение низкокипящего растворителя (диэтилового эфира, ацетона) требуется не более тридцати минут. При работе с более высококипящими растворителями (бензол, четыреххлористый углерод и т.п.) для ускорения испарения сосуд можно подогреть электронагревателем. После завершения испарения растворителя приготовленный сорбент досушивается в сушильном шкафу.

Метод нанесения НЖФ в вакууме

Подготовленный твердый носитель и раствор жидкой фазы смешивают в круглодонной колбе, подсоединенной к вакуумному насосу (лучше водоструйному). Испарение растворителя производится в вакууме, достаточном для испарения растворителя при комнатной температу-

ре. В течение всего времени испарения растворителя колбу с суспензией следует поворачивать или осторожно встряхивать для перемешивания сорбента. По мере испарения растворителя сорбент становится сухим. Еще некоторое время сорбент выдерживается в вакууме, после чего осторожно выпускается воздух. Сорбент выгружается, досушивается в сушильном шкафу и хранится в эксикаторе.

Для нанесения НЖФ, описанным методом можно применить ротационный испаритель.

Нанесение НЖФ на пористые полимеры

Нанесение НЖФ на пористые полимерные твердые носители производится одним из приведенных выше способов, однако количество НЖФ, которое можно нанести не превышает 10%.

Приготовление капиллярных колонок

Для нанесения НЖФ на внутреннюю поверхность капиллярной колонки используют статические и динамические методы.

При использовании статического метода колонки заполняют разбавленным раствором НЖФ в низкокипящем растворителе, затем один конец запаивают, а другой присоединяют к вакуум-насосу для испарения растворителя. Иногда применяют нагревание колонки.

Сущность динамического метода заключается в предварительной очистке стенок колонки растворителями (обычно ацетоном, бензолом, диэтиловым или петролевым эфирами) с последующим смачиванием внутренней поверхности капилляра при пропускании через него определенного объема раствора НЖФ в растворителе (диэтиловый или петролевый эфиры, пентан, гексан, хлороформ, бензол) под действием повышенного давления инертного газа.

При нанесении НЖФ необходимо соблюдать два требования: равномерно наносить в виде тонкой пленки и не разрушать частицы твердого носителя.

2.4 ТВЕРДЫЕ НОСИТЕЛИ И АДСОРБЕНТЫ

При газожидкостной хроматографии на заполненных сорбентом колонках исследуемые смеси разделяются на сорбенте, состоящем из *твердого пористого материала (носителя)*, покрытого тонким слоем высококипящей жидкости (неподвижной жидкой фазы).

Назначение твердого носителя — прочно удерживать неподвижную жидкую фазу и создавать большую поверхность соприкосновения между подвижной (газ-носитель) и НЖФ, не вступая в химическое взаимодействие с анализируемыми веществами. В качестве материала для твердого носителя пригоден мелкозернистый, устойчивый при температуре колонки, инертный твердый материал. Однако эффективность разделения зависит от однородности материала, заполняющего колонку, и от геометрической структуры частиц твердого носителя.

При выборе материала носителя следует учитывать его структуру и характеристики поверхности. Структура свидетельствует об эффективности материала в качестве носителя, а характеристики поверхности указывают на степень влияния материала на процесс разделения. В идеальном случае поверхность должна быть химически инертной, тогда она не будет оказывать влияния на разделение. Площадь поверхности должна быть достаточно большой, чтобы жидкая фаза была распределена в виде тонкой пленки, а структура твердого носителя должна обеспечивать удержание НЖФ, тогда эффективность будет высокой.

Идеальный материал для носителя должен обладать следующими свойствами:

- большой удельной поверхностью, чтобы упростить получение мелкодисперсного распределения жидкой фазы;
- химической инертностью, для предотвращения адсорбции компонентов пробы в рабочих условиях;
- механической прочностью, чтобы выдерживать процессы нанесения покрытия и наполнения колонки;
- однородными по размеру частицами (узкий ситовый состав), чтобы обеспечить равномерное наполнение колонки;
- соответствующей пористой структурой для получения быстрого массопереноса в обеих фазах;
- термостойкостью для осуществления режимов работы при высоких температурах.

2.4.1 Природа твердого носителя

Хотя ни один материал-носитель не удовлетворяет всем этим критериям, имеется большое число специально обработанных носителей, которые дают удовлетворительные результаты.

Товарные типы носителей поставляются уже просеянными и обработанными, и размер их зерен чаще всего составляет около 0,1 мм. С химической точки зрения носители можно разделить на две группы.

а) Для **силикатных носителей** используют чистые диатомитовые земли (кизельгур) называемые еще цеолитом 545 — остатки одноклеточных организмов (диатомей), имеющие пористую структуру (удельной поверхностью $S_{уд}=20 \text{ м}^2/\text{г}$). В состав земель входит SiO_2 и примесь оксидов алюминия, железа, магния, натрия, калия, кальция, титана, фосфора. Сами по себе диатомитовые земли в ГЖХ не используются. Путем плавления, кальцинирования, просеивания, промывки в неорганической кислоте или щелочи и силанизации из нее получают две основные группы, отличающиеся по цвету.

Белый материал (хромосорб W) получают путем прокаливания кизельгура при 900°C , добавляя 2–5% карбоната натрия. При этом получают материал с низкой адсорбционной активностью ($S_{уд}=1\text{--}3 \text{ м}^2/\text{г}$). Максимальное нанесение НЖФ составляет 25%, обычно используют 15%. Белый материал относительно инертен и часто бывает хрупким. Область рН водной суспензии составляет 8–10. Термостойкость до 1000°C . К недостаткам данного материала можно отнести отсутствие возможности использования для анализа кислых соединений (без особой обработке) и нежелательное использование кремнийорганических НЖФ (при повышенных температурах происходит гидролиз в щелочной среде). Белые носители пригодны для анализа неполярных и среднеполярных соединений. Цель их использования является понижение энергетической неоднородности и повышение инертности системы.

Розовый материал (хромосорб Р) получают при прокаливании диатомитовой земли с добавлением глины при температуре порядка 1200°C . Он имеет относительно большую удельную поверхность ($S_{уд}=4\text{--}6 \text{ м}^2/\text{г}$) благодаря мелкопористой структуре и обладает хорошими характеристиками механической прочности. Однако химическая инертность у него ниже, чем у белого носителя. На основе розового носителя получают высокоэффективные колонки, благодаря высокой удельной поверхности, но максимальная эффективность реализуется только при анализе неполярных соединений. На розовые носители можно нанести большее количество НЖФ — до 33% (обычно $\sim 25\%$).

В целом колонки, наполненные сорбентом на основе белого носителя, имеют меньшую эффективность, чем колонки, наполненные сорбентом на основе розового диатомита. Однако первые предпочтительнее для разделения полярных проб, благодаря более низкой активности носителя.

Другой тип носителей получают дроблением теплоизоляционных кирпичей, изготавливаемых путем обжига диатомитовой земли с минеральными вяжущими веществами. По сравнению с чисто диатомитовыми эти

носители обладают меньшей удельной поверхностью, но большей механической прочностью.

б) *Носители из графитированной сажи* находят применение при решении специальных аналитических задач (например, при разделении серосодержащих и кислых газов).

Кроме природных материалов в качестве твердых носителей применяют **полимерные материалы**. Существует два типа полимерных твердых носителей:

- полихром-1 или 2 (Россия), Тефлон-6 (США);
- полисорб-1 (Россия), Хромосорб-100–110 (США).

Оба эти сорбента обладают невысокой максимально допустимой рабочей температурой (220 и 170°C, соответственно), малой механической прочностью (особенно полихром-1, легкосминаемый) и высокой электризуемостью.

Полисорб-1 — продукт сополимеризации стирола и дивинилбензола, типичный адсорбент ($S_{уд} = 250 \text{ м}^2/\text{г}$). Этот тип носителя чаще всего используется в качестве адсорбентов в газово-адсорбционной хроматографии (ГАХ). В ГЖХ используется редко, при этом оптимальное количество НЖФ около 4% (монопленка). Надо полагать, что речь идет в данном случае лишь о модификации сорбента.

Полихром-1 — продукт полимеризации тетрафторэтилена, часто используется в ГЖХ при анализе высокополярных соединений (воды, кислот, гликолей и т.п.), поскольку неполярная поверхность его лишена адсорбционных центров и он не обладает каталитической активностью. К сожалению этот твердый носитель не дает высокоэффективных колонок (ВЭТТ около 3 мм), поскольку пористость его поверхности ($S_{уд}$ около $8 \text{ м}^2/\text{г}$) обусловлена лишь мелкими, трещиновидными порами. Количество НЖФ, которое можно на него наносить, не превышает 10%. НЖФ наносятся на него обычным способом. Однако заполнение колонки рекомендуется проводить при охлаждении и сорбента и колонки до 0°C. При этом уменьшается электризуемость сорбента и слипаемость его частиц. Такие колонки имеют несколько большую эффективность.

Преимуществом твердых носителей, приготовленных на основе тефлона, является его минимальная химическая реакционная способность: он реагирует только с расплавленными щелочными металлами и с элементарным фтором и совершенно не обладает каталитической и адсорбционной активностью. Таким образом, он является лучшим носителем для разделения сильнополярных и реакционноспособных соединений.

Недостатками полимерных твердых носителей являются:

- плохая смачиваемость;
- сильная электризуемость;
- невысокая прочность;
- низкая максимально допустимая рабочая температура (обычно не выше 165 – 200°C);
- небольшое количество наносимой НЖФ (около 10%).

Малой каталитической и адсорбционной активностью обладают так же многие сорта стеклянных микрошариков, применение которых возможно в качестве твердого носителя. Вследствие малой удельной поверхности стеклянных шариков на них можно наносить лишь малые количества неподвижной жидкой фазы. Максимальное количество НЖФ зависит от радиуса шариков, поверхностного натяжения и плотности неподвижной жидкой фазы и находится в пределах 0,05–3%.

Твердые вещества с удельной поверхностью $10\text{--}10^3$ м²/г могут применяться в качестве твердых носителей и адсорбентов. Наиболее подходящими для газовой хроматографии адсорбентами являются такие, у которых удельная поверхность колеблется в пределах 60–400 м²/г. К ним относятся активные угли, силикагель, активный оксид алюминия, молекулярные сита и пористые полимеры. Данный вид твердых носителей используется в газо-адсорбционной хроматографии в качестве насадки.

2.4.2 Модифицирование твердых носителей

Чтобы устранить или, по крайней мере, уменьшить присущую большинству твердых носителей нежелательную активность, применяют различные методы:

1. Химическое модифицирование твердых носителей:

- а) промывка минеральными кислотами (кипячение с HCl или H₃PO₄) используется для понижения каталитических свойств (маркировка: хроматон-N-AW); применяют при анализе кислот;
- б) промывка щелочами позволяет нейтрализовать кислотные свойства поверхности (маркировка: хроматон-N-ABW); используют при анализе основных соединений.
- в) обработка хлорсиланами или силазанами позволяет дезактивировать высокоактивные гидроксильные группы на поверхности твердого носителя (маркировка: хроматон-N-AW-ДМХС);
- г) введение алкильных групп;
- д) нанесение НЖФ с последующей ее полимеризацией непосредственно на твердом носителе.

2. *Физическое модифицирование твердых носителей:*

- а) насыщение анализируемым веществом;
- б) нанесение других сильно полярных веществ на поверхность;
- в) нанесение слоя смолы;
- г) покрытие благородным металлом.

Таким образом, для целей газо-жидкостной хроматографии пригоден материал, который с самого начала или после модифицирования неактивен, обладая удельной поверхностью 1–2 м²/г, состоит из узких фракций в области величин зерна 0,15–0,30 мм и содержит устойчивые к нагреванию, по возможности правильные (сферические) частицы, не изменяющие своей формы при механических воздействиях, с порами диаметром от $0,5 \cdot 10^{-3}$ до $1,5 \cdot 10^{-3}$ мм.

Свойства некоторых твердых носителей приведены в табл. 8.

Таблица 8 – Свойства некоторых твердых носителей

Торговое наименование	Удельная поверхность, $S_{уд}$, м ² /г	Максимальное содержание НЖФ, %	Активность и прочие свойства
Кизельгур	1–5	30	Возможны реакции с кислородсодержащими соединениями; для насыщенных спиртов возможно образование "хвостов"; оказывает высокое сопротивление потоку газа-носителя.
Целит 545	0,45	30	То же
Хромосорб-W	1–3	30	То же
Стеклянные микрошарики	0,04–0,46	3	При содержании НЖФ выше 0,1% некоторые сорта не обладают каталитической активностью, адсорбция отсутствует.
Тефлон-6	0,44–0,64	8	Отсутствие каталитической и адсорбционной активности; применение до 180°C
Силикагель, модифицированный	9	60	Практически неактивен

2.4.3 Размер зерен сорбента

Путем подбора размера зерен сорбента можно в несколько раз увеличить эффективность колонки. Увеличение эффективности при уменьшении размера зерен объясняется уменьшением размеров пустых полостей. Вследствие этого увеличивается неравномерность потока газа-носителя по сечению и путь внешней диффузии. Но чрезмерно мелкий сорбент увеличивает гидравлическое сопротивление, комкование и слипание частиц.

Для сортировки носителя используют метод седиментации частиц или просеивание через сита. Для колонки диаметром 3–4 мм оптимальным считается размер частиц 0,1–0,2 мм (иногда мельче). Фракция должна быть более узкой, т.к. от этого зависит равномерность потока газа-носителя.

2.4.4 Плотность набивки колонки

На четкость хроматографического разделения веществ влияет плотность набивки, от которой зависит гидравлическое сопротивление и доля свободного объема колонки. Универсальных рецептов нет. Плотность набивки должна быть такой, чтобы при оптимальной скорости потока газа-носителя давление на выходе было не слишком велико. Особое внимание необходимо уделять равномерности заполнения.

2.5 ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ КОЛОНКИ

Хроматографическая колонка представляет собой трубку с фиксированной неподвижной жидкой фазой, через которую протекает подвижная фаза. В зависимости от расположения неподвижной фазы колонки делятся на насадочные (набивные) и капиллярные (таблица 9).

Таблица 9 – Типы хроматографических колонок

Тип колонки	Внутренний диаметр d_k , мм	Длина L_k , м	Объем V_k , см ³
Насадочные	2,0–6,0	0,5–5,0	1,5–141
Микронасадочные	0,5–1,0	0,1–2,0	0,02–1,5
Капиллярные	0,05–0,5	10–200	0,02–39,2

2.5.1 Насадочные (набивные) колонки

Насадочные колонки наполнены адсорбентом (система газ–адсорбент) или инертным твердым носителем, обработанным жидкой неподвижной фазой (система газ–жидкость).

Материалом для насадочных колонок является нержавеющая сталь, никель, медь, алюминий, стекло или фторопласт.

Металлические колонки отличаются прочностью. Их легко термостатировать и перед использованием следует тщательно очищать (раствором соляной кислоты, органическими растворителями). Не всегда пригодны для анализа жирных кислот.

Медные и алюминиевые колонки используют для анализа углеводородов и других инертных соединений. При анализе полярных соединений возможны адсорбционные и каталитические (как самого металла, так и их оксидов). Медные непригодны для разделения ацетилсодержащих смесей, а алюминиевые — в случае использования молекулярных сит (в качестве адсорбента).

Колонки из фторопласта (тефлона) используют для анализа коррозионно-активных веществ и при выполнении анализов на содержание малых примесей высокополярных соединений (вода, аммиак и т.п.) при температуре более 90–100°C.

Стеклянные колонки (пирексовские) используют при анализе полярных соединений. Достоинством колонки является возможность визуального наблюдения за состоянием насадки как в процессе набивки, так и в процессе анализа. Недостатком является хрупкость.

Эффективность этих колонок зависит от размеров зерен насадки, от способа нанесения НЖФ на твердый носитель и от тщательности набивки трубки сорбентом.

Микронасадочные колонки отличаются от насадочных только длиной и внутренним диаметром трубок (см. табл. 9).

2.5.2 Капиллярные колонки

Капиллярные колонки имеют неподвижную фазу, твердую либо жидкую, нанесенную в виде тонкого слоя (толщиной максимум несколько мкм) на внутреннюю стенку капилляра, остальное пространство остается полым. Поток газа движется по такой колонке с большой линейной скоростью, не встречая значительного сопротивления. Несмотря на большую длину, для обеспечения необходимых расходов газа-носителя через капиллярную колонку оказывается достаточным примерно такое же входное давление, что и при работе с насадочными колонками.

Капиллярные колонки делят на:

- открытые (незаполненные) (ООК) — wall-coated open tubular columns (WCOT columns) — классические;
- открытые с пористым слоем (ОКК-ПС) — porouslayer open tubular columns (PLOT columns);
- открытые с твердым носителем (ОКК-ТН) — support-coated open tubular columns (SCOT columns).

Отличительной особенностью капиллярных колонок является очень высокая эффективность (до нескольких тысяч теоретических тарелок на 1 м). ООК используют для разделения многокомпонентной смеси. Однако толщина пленки НЖФ (0,1–0,8 мкм) не позволяет достичь высокой емкости колонки при анализе концентрированных растворов. Нельзя разделить вещества с низкой молекулярной массой или инертных газов при обычных температурах (для этого используют ОКК-ПС и ОКК-ТН).

ОКК-ПС — это капиллярные колонки, на внутренние стенки которых нанесен слой адсорбента ($\text{Al}_2\text{O}_3/\text{KCl}$), молекулярные сита или пористые полимеры (порапак Q). К недостаткам этих колонок можно отнести меньшую эффективность по сравнению с ОКК-ТН, невысокую инертность и снижение стабильности и воспроизводимости во времени.

ОКК-ТН — капиллярные колонки, на внутренних стенках которых нанесен слой носителя с НЖФ. Последняя наносится на твердый носитель, прикрепленный к стенке колонки. Основным достоинством является применение широкого ассортимента НЖФ.

Эффективность работы капиллярной колонки в значительной мере определяется чистотой и однородностью внутренней поверхности капилляра.

Капиллярные колонки изготавливают из нержавеющей стали, меди, стекла или кварца и применяют в тех случаях, когда насадочные колонки не позволяют достаточно хорошо разделять компоненты, либо когда для хорошего разделения требуется слишком длительное время.

Наиболее широкое распространение получили капилляры из стекла, позволяющие анализировать термически и каталитически неустойчивые, а также высокомолекулярные соединения. Стекла (натрий-кальциевые, боросиликатные) наиболее дешевы и доступны, к тому же инертнее и стабильнее, чем металлические. К недостаткам относят высокую остаточную адсорбционную активность (особенно по отношению к полярным соединениям) и низкую механическую прочность.

Перечисленные выше недостатки для стеклянных колонок отсутствуют у кварцевых капиллярных колонок. Низкая остаточная адсорбционная активность достигается использованием химически чистого SiO_2 .

За счет нанесения на колонку после ее вытяжки внешнего защитного слоя (полиимидного лака, алюминиевого или золотого), предотвращается статическая усталость колонки (гидролиз связи Si–O), влекущая за собой растрескивание и ломку капилляра. Если капилляры защищены полиимидной пленкой, то при работе с ними нельзя превышать температуру 300°C.

2.5.3 Формы, установка и соединение колонок

Колонку той или иной формы выбирают в соответствии с размерами термостата. Наиболее распространены U-, W-образные и спиральные колонки.

В хроматографе колонки устанавливаются между дозатором и детектором. Концы колонок должны закрепляться в этих элементах хроматографа таким образом, чтобы полностью отсутствовало «мертвое пространство», непродуваемое газом-носителем. Следовательно, в случае насадочной колонки игла микрошприца должна достигать насадки, а конец капиллярной колонки должен при введении пробы находиться на расстоянии 10–15 мм от конца иглы. Выходной конец капиллярной колонки вводится в горелку пламенно-ионизационного детектора непосредственно под форсунку или пропуская через нее на уровень среза пламени, а в случае электронно-захватного детектора — в пространство излучения. Чтобы не допустить утечку газа, колонки крепят в приборе накладными гайками и уплотняют бочкообразными, коническими, кольцевыми или другими прокладками. Металлические колонки можно уплотнять алюминиевыми прокладками или прокладками из нержавеющей стали, для стеклянных колонок рекомендуется применять пластиковые кольцевые прокладки (например, из витона или фторопласта), а при необходимости — из графита. Стеклянные и кварцевые капиллярные колонки уплотняют силиконовой резиной, кальрезом, вспенен и прессованной смесью графита с фторопластом (графлок).

У стандартных инжекторов имеется ввод для иглы, отделенный от атмосферы дисковой или цилиндрической прокладкой из силиконовой резины, которая хотя и не обладает такой упругостью, как натуральный каучук, но зато имеет более высокую свето- и термостойкость. Такие прокладки выпускаются нескольких типов: для обычных нужд и рабочих температур до 200°C; более упругие прокладки, обладающие большей стойкостью к прокалыванию: прокладки, применяемые при работе с программируемой температурой в случае низкого содержания более летучих олигомеров и при максимальной температуре 250–300°C; наконец, для микроанализа рекомендуется силиконовая прокладка, покрытая политетрафторэтиленовой пленкой. Для работы при высоких температурах (вы-

ше 300°C) применяют прокладки из эластомера типа политетрафторэтилена (пиросеп S-1).

Современные газовые хроматографы позволяют применять одновременно две и более колонки. Колонки можно устанавливать либо параллельно, либо последовательно. В случае параллельного соединения можно получать большую информацию о качестве анализируемого компонента (если в каждой колонке разная неподвижная фаза). Колонки соединяют последовательно при необходимости применения некоторых методик, согласно которым в процессе одного анализа требуется изменить направление потока газа-носителя и вспомогательного газа. Этой цели служит дополнительное оборудование, состоящее из многоходовых кранов или из сдвоенных тройников с подводимыми капиллярными или соленоидными клапанами. В этом случае можно применять метод обратной промывки для быстрого удаления компонентов с большим временем удерживания, либо определять эти компоненты суммарно, либо выделять из всего хроматографического спектра только интересующий нас участок.

2.5.4 Факторы, влияющие на эффективность колонки

Диаметр и форма колонки

Влияние диаметра набивных колонок на эффективность достаточно четко не выяснено. При аналитических исследованиях хорошим компромиссом являются трубки с внутренним диаметром 2 мм. Змеевиковые наполненные колонки могут иметь низкие характеристики, если отношение диаметра трубки к диаметру змеевика мало. Этот эффект проявляется сильнее для колонок большого диаметра, однако в случае колонок с внутренним диаметром 1–3 мм и обычного диаметра змеевика им можно пренебречь.

Характеристика капиллярных колонок является функцией квадрата внутреннего диаметра трубки. Поэтому малые внутренние диаметры, например 0,25 мм предпочтительнее, когда требуется высокая эффективность.

Длина колонки

Минимальная длина колонки определяется числом тарелок, необходимым для получения требуемой степени разделения. Максимальная длина зависит от объема термостата хроматографа и максимально допус-

тимого перепада давления, которое определяется используемым оборудованием.

Степень разделения возрастает как корень квадратный из длины колонки; таким образом, длину следует увеличивать в 4 раза, чтобы получить в 2 раза большую степень разделения. Скорость проведения анализов при фиксированной скорости газа-носителя пропорциональна длине колонки. Поэтому предпочтительна колонка минимальной длины, обеспечивающая разделение всех интересующих компонентов пробы.

Газ-носитель

Выбор газа-носителя зависит, главным образом, от нагрузки неподвижной жидкой фазы, она же определяет оптимальный диапазон скоростей газов. Легкие газы-носители (водород, гелий) лучше применять для колонок с малым содержанием НЖФ, которые работают с высокими скоростями потока для быстрых аналитических разделений. Тяжелые газы-носители (азот, аргон) наиболее пригодны для колонок с высоким содержанием НЖФ, которые работают с оптимальной скоростью потока в препаративном режиме.

Температура колонки

Изменение температуры в ходе любого хроматографического разделения приводит к изменению разделения центров зон и ширины каждой из зон. Влияние изменения температуры на параметры процесса сложно; оно вызывает изменение коэффициентов распределения и продольной диффузии, а также изменение массопереноса. Обычно с повышением температуры уменьшается время удерживания, разделение зон и размывание зон. Время удерживания уменьшается с повышением температуры, так как уменьшается время пребывания вещества в неподвижной жидкой фазе. Как следствие этого ухудшается разделение центров зон. Влияние температуры на ширину зоны противоположно влиянию скорости перемещения элюента на ВЭТТ. С повышением скорости уменьшается продольная диффузия и возрастает член в уравнении Ван-Деемтера, связанный с массообменом. Повышение температуры вызывает увеличение подвижности вещества и, таким образом, приводит к возрастанию диффузии и уменьшению сопротивления массообмену. При понижении температуры разделение обычно улучшается, поскольку при этом увеличение расстояния между центрами зон преобладает над увеличением ширины пиков.

Однако, при выборе условий разделения предпочтение следует отдавать повышению температуры, причем целесообразно выбирать наиболее высокую температуру, обеспечивающую необходимое разделение.

Оптимальная температура колонки обычно определяется экспериментальным путем. Она представляет собой компромисс между разделением, которое ухудшается, и скоростью анализа, которая увеличивается с возрастанием температуры. При более высоких температурах скорость установления равновесия анализируемого вещества между двумя фазами возрастает; таким образом, время анализа можно уменьшить, используя более высокие скорости газа-носителя. Свойства конкретной НЖФ следует учитывать при выборе температуры колонки.

Скорость газа-носителя

Высота эквивалентной теоретической тарелки (ВЭТТ) минимальна, а степень разделения максимальна при оптимальной скорости газа-носителя ($U_{\text{опт}}$). Значение $U_{\text{опт}}$ зависит от конструкции колонки, неподвижной жидкой фазы, газа-носителя, температуры и компонентов пробы. На практике $U_{\text{опт}}$ составляет от 1 до 24 см³/с, и этот широкий диапазон демонстрирует разнообразие типов колонок и условий их функционирования, применяемых в газовой хроматографии.

В большинстве случаев колонка работает при скоростях газа, превышающих $U_{\text{опт}}$, чтобы ускорить разделение или получить более высокие пики, когда используется массчувствительный детектор, например пламенно-ионизационный. Если не требуется максимальной эффективности, существует достаточно широкий практический диапазон приемлемых скоростей газа-носителя.

Величина пробы

Объем пробы обычно определяется тем количеством компонентов пробы, при котором теряется не более 10% эффективности, экстраполированной на нулевую величину пробы. Перегрузка колонки приводит не только к потере эффективности, но и к искажению формы пика, и сдвигу времени удерживания; это может быть допустимо только при препаративной работе или при анализе следовых количеств веществ, выходящих на «хвосте» основного компонента.

Явления, связанные с перегрузкой, зависят от кривизны изотермы адсорбции при высоких концентрациях и от начальной ширины зоны пробы, вводимой в колонку. Согласно эмпирическому правилу, начальная ширина зоны пробы должна быть меньше, чем $\sqrt{N}$, где N — число

теоретических тарелок. При количественном анализе источником ошибок может быть и перегрузка детектора. Это происходит, если величина пробы больше верхнего предела линейного диапазона детектора при данных рабочих условиях.

Режим работы хроматографа

Если компоненты пробы мало различаются по параметрам удерживания при изотермическом режиме работы хроматографа и фиксированной скорости газа-носителя часто не достигается их полное разрешение, поскольку условия благоприятны только для разделения группы компонентов.

Очень длительные времена удерживания последних пиков и в результате их малая высота, часто оказываются непрактичными. В таких случаях следует применять программирование температуры или использование других режимов работы хроматографа.

При работе с программированием температуры в течение опыта происходит постепенное равномерное повышение температуры. Преимущество программирования температуры заключается в том, что растворенные вещества проходят по колонке при температуре, оптимальной для их разделения, если соответствующим образом выбраны начальная температура и скорость нагрева. В результате продолжительность анализа значительно снижается, достигается хорошее разрешение, а высота последних пиков возрастает.

Удерживание пика часто характеризуют *температурой удерживания*, т.е. температурой, при которой выходит максимум пика. Это фундаментальная величина в газовой хроматографии с программированием температуры, и ее значение сравнимо с объемом удерживания и временем удерживания. Например, температура удерживания возрастает линейно с числом атомов углерода некоторых гомологических рядов, таких как нормальные алканы.

Следующие факторы представляют особый интерес для газовой хроматографии с программированием температуры: начальная температура, скорость нагрева, конечная температура и скорость потока газа-носителя.

Начальная температура зависит от удерживания большинства летучих компонентов пробы. Более летучие растворенные вещества часто элюируются в изотермическом режиме; последующее разделение других компонентов осуществляется при возрастании температуры. В отсутствие летучих компонентов пробы выбор начальной температуры обычно не является критическим. Конечная температура определяется макси-

мально допустимой температурой для применяемой НЖФ. Отношение скорости нагрева и скорости потока газа-носителя определяет температуру удерживания компонентов. Для каждой колонки существует оптимальное соотношение, которое связано с количеством неподвижной жидкой фазы в колонке. Скорость анализа может быть повышена за счет увеличения скорости нагрева и скорости потока газа-носителя, однако эффективность колонки в этих условиях снижается. В случаях анализа сложных смесей следует применять низкую скорость нагрева, которая позволяет получить высокую степень разделения.

Конструкция колонки определяет эффективность как в изотермической газовой хроматографии, так и в хроматографии с программированием температуры. Тем не менее, при анализе с программированием температуры наблюдается потеря эффективности, вызванная неравномерным профилем температуры в колонке, что особенно сильно проявляется при высоких скоростях подъема температуры. Чтобы сделать минимальным этот эффект, рекомендуется применять колонки малого диаметра (внутренний диаметр — 1,6–2 мм), изготовленные из тонкостенных металлических трубок и применять в качестве газа-носителя гелий или водород.

Унос НЖФ сильно возрастает с увеличением температуры и приводит к дрейфу нулевой линии. Эту трудность можно преодолеть, применяя компенсационную систему из двух идентичных колонок и двойной (спаренный) ДИП или детектор по теплопроводности.

Выбор колонки и условий ее функционирования оказывает наибольшее влияние на результативность хроматографического анализа. Эффективность метода определяется, главным образом, избирательностью (селективностью) неподвижной жидкой фазы по отношению к разделяемым компонентам пробы и эффективностью колонки. Имеется большое число НЖФ, и при выборе наиболее пригодной следует принимать во внимание их полярность и рабочий диапазон температур.

Хотя теория дает солидную основу для понимания физико-химических факторов, определяющих хроматографический процесс, когда дело доходит до практической работы, газовая хроматография все еще является искусством. Она требует также умения и опыта для приготовления эффективных колонок и манипулирования с пробой, скоростью потока газа-носителя и температурой колонок часто на основании метода проб и ошибок.

Глава III. АППАРАТУРА

3.1 СИСТЕМА ПОДГОТОВКИ ГАЗОВ

Система подготовки газов предназначена для:

- 1) установки скорости газа-носителя и вспомогательных газов;
- 2) стабилизации скорости, давления и расхода газов;
- 3) очистки газов.

Основными элементами этой системы являются дроссель, регулятор давления и регулятор расхода.

3.1.1 Основные элементы

Дроссель — устройство, позволяющее изменить расход (объемную скорость) газа-носителя путем изменения аэродинамического сопротивления канала, по которому течет газ.

Дроссель не стабилизирует давление на выходе, он лишь снижает входное давление. Использование этого устройства для установки расхода возможно только при постоянном входном давлении газа (от индивидуального газового баллона).

Поскольку требующаяся точность качественной и количественной информации является функцией постоянного перепада давления и постоянной скорости потока газов, все газы проходят через регуляторы давления, а газ-носитель проходит еще и через регулятор скорости потока.

Регулятор давления представляет собой устройство, поддерживающее на выходе постоянное давление при меняющемся избыточном давлении на входе (например, при постоянно снижающемся давлении в стальном баллоне по мере расходования газа) с одновременным отбором газа.

Работа всех регуляторов давления основана на принципе равновесия сил. Для изготовления всех деталей выбирают материалы с минимальным коэффициентом теплового расширения. Если возникает необходимость прецизионной работы, регулятор давления следует термостатировать.

Регулятор расхода газа (скорости потока) представляет собой устройство, которое поддерживает постоянную скорость потока газа даже при изменении величины пневматического сопротивления на выходе из регулятора. Обычно используют два принципа конструкции регулято-

ров: мембранный и с вставной микродиафрагмой, которые применяются совместно с регуляторами давления. В обоих случаях отмечается, что изменения объемной скорости потока не превышают 0,2%.

3.1.2 Манометры и расходомеры

В более старых системах серийных хроматографов применяются цельнометаллические манометры Бурдона, новейшие системы снабжены тензометрическими датчиками, связанными с чувствительными индикаторными приборами и соединенными с системой управления регулятором с помощью микропроцессора.

Расходомеры (рис. 7) позволяют измерять поток газа в единицах объема за определенное время. В случае применения капиллярных колонок рекомендуется эту величину переводить в среднюю линейную скорость (линейная скорость потока). Расходомеры устанавливаются либо перед дозирующим устройством, либо после детектора, что бывает реже.

Простейшим устройством является **мыльно-пленочный измеритель** (пузырьковый расходомер, рис. 7, а). Он представляет собой стеклянную трубку с нанесенными на нее делениями и Т-образным участком снизу для двух входов. По горизонтальной ветви Т-образного участка подводится газ, скорость которого необходимо измерить, а через нижнюю ветвь в течение нескольких

секунд выдавливается мыльный раствор выше уровня входа газа. Образующаяся пленка мыльного раствора уносится по трубке, и время, необходимое для ее прохождения участка между делениями, измеряется секундомером. Такой расходомер позволяет получать точные и непосредственные данные о скорости потока и может также служить инструментом для калибровки расходомеров других типов. Он не может быть встроен в хроматограф и обеспечивает лишь

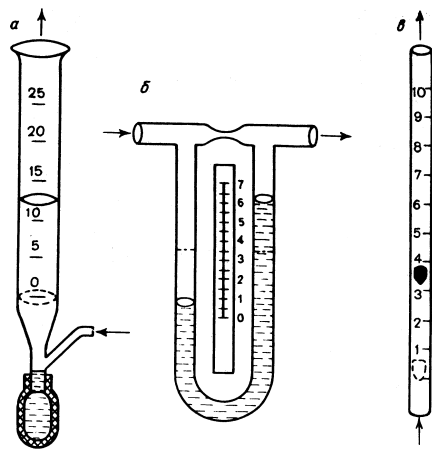


Рисунок 7 – Измерители расхода газа:

а – мыльно-пленочный; б – реометр; в – ротаметр.

Стрелками показано направление потока газа-носителя; пунктиром обозначено исходное положение мыльной пленки (а), уровня рабочей жидкости (б) и поплавка (в)

периодическое измерение расхода на выходе из колонки или детектора.

Для измерения расходов в сравнительно узком интервале могут быть применены *реометры* (рис. 7, б) с близкой к линейной зависимостью разницы уровней рабочей жидкости от расхода газа. Реометр удобен простой его градуировкой и наглядностью показаний. Введение его в линию газа для получения непрерывных измерений нежелательно, так как пары рабочей жидкости реометра загрязняют газ и не исключена возможность переброса жидкости в газовую линию.

Другим простым расходомером является *ротаметр* (рис. 7, в), представляющий собой трубку, установленную строго вертикально и незначительно расширяющуюся по направлению снизу вверх. В трубке помещается конический поплавок или шарик, который при прохождении газа всплывает. Положение поплавка является ориентировочной функцией количества газа, проходящего в единицу времени.

Применяются также расходомеры, которые позволяют преобразовывать скорость потока газа в соответствующую электрическую величину. Принцип их действия заключается либо в охлаждении нагреваемого датчика протекающим газом, либо в измерении количества тепла, переносимого протекающим газом. В первом случае в качестве датчика используют раскаленное металлическое волокно, фольгу или полупроводниковые термисторы; датчик является составной частью схемы электрического моста. Во втором случае для измерения смещения температуры служит тонкостенная металлическая трубка, по которой проходит газ, скорость потока которого измеряют. В середине трубки находится спираль, через которую пропускают постоянный ток. У обоих концов спирали расположены термометры сопротивления. Проходящий газ охлаждает термометр, расположенный у входа газа, тогда как второй термометр по ходу газа нагревается. После соответствующей калибровки можно по разности температур рассчитать скорость потока газа.

3.2 ДОЗИРУЮЩИЕ УСТРОЙСТВА

Дозатор является составной частью хроматографа, которая позволяет вводить пробу в поток газа-носителя. Сначала отмеряют объем или массу пробы, а затем вводят ее в пространство, в котором поддерживается заданная температура и через которое проходит газ-носитель. Конструкция дозатора должна решаться с таким расчетом, чтобы:

- 1) вносимая проба занимала минимальный объем колонки и не вызывала перегрузки колонки, и с учетом чувствительности детектора;
- 2) проба быстро переходила в газообразное состояние и поступала в колонку, не изменяя своего состава;

3) данные по временам удерживания воспроизводились с точностью до десятой доли процента, а площади пиков изменялись с отклонением менее 1%;

4) разделяющая способность колонки не ухудшалась;

5) введение пробы не вызывало изменения установившегося режима работы систем хроматографа (зашкаливание нулевой линии, резкое изменение давления газа-носителя и температуры дозатора).

Дозатор конструируется с учетом:

- необходимости присоединения насадочной или капиллярной колонки;
- необходимости дозирования пробы вручную или автоматически;
- возможности использования микрошприца или другого устройства, предназначенного для введения пробы в зону газа-носителя.

Существуют несколько типов дозаторов, конструкция которых определяется агрегатным состоянием вводимых проб.

Инжекторы (испарители) для введения газообразных и жидких проб микрошприцами сконструированы в виде двух соосных трубок из нержавеющей стали (рис. 8). Газ-носитель проходит между трубками, нагревается и под эластичной перегородкой, герметично укрепленной на дозаторе накидной гайкой и предназначенной для введения иглы микрошприца, меняет свое направление.

Проходит по внутренней трубке и поступает в колонку. Иногда во внутреннюю трубку помещают стеклянный вкладыш, чтобы пары пробы не контактировали с металлической стенкой. В случае насадочных колонок конец колонки выводится под эластичную перегородку, поэтому игла микрошприца достигает насадки. Кроме того, непосредственно под перегородкой расположено устье капилляра, через которое выходит часть газа-носителя, обмывает перегородку и выносит из нее остатки пробы.

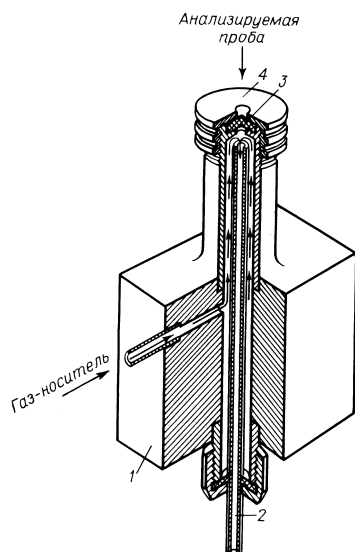


Рисунок 8 – Испаритель:

1 – корпус; 2 – прижимная гайка; 3 – термостойкая мембрана; 4 – канал испарения пробы

В случае капиллярных колонок имеется выбор между двумя типами дозаторов-инжекторов, а именно для дозирования с делением потока и без деления потока (*split* и *splitless*) или для дозирования непосредственно в колонку (*on-column*). Первый тип инжектора в принципе аналогичен инжектору, применяемому в случае насадочной колонки. Начальный участок колонки укреплен в инжекторе таким образом, чтобы газ-носитель мог сначала омывать его и только затем поступать в делитель потока. Делитель потока присоединен к нижней части инжектора в виде капилляра, через который выходит избыток газа-носителя с пробой. Скорость потока через капилляр регулируется игольчатым вентилем, присоединенным к его концу.

Инжектор, предназначенный для дозирования методом «в колонку» (*on-column*), имеет другую конструкцию. Внутреннее пространство отделено от наружного не эластичной перегородкой, а краном с отверстием, позволяющим микрошприцу плотно входить через него. Игла микрошприца обычно изготавливается из тонкого кварцевого капилляра, позволяющего вносить пробу непосредственно в колонку, предотвращая тем самым дискриминацию высококипящих компонентов пробы, которая иногда имеет место при дозировании с делителем потока. После извлечения иглы и шприца из инжектора, последний вновь закрывается краном.

3.2.1 Микрошприцы

Для ввода вручную газообразных, парофазных и жидких проб чаще всего используют микрошприцы. Обычные шприцы и микрошприцы с объемом свыше 5 мкл представляют собой цилиндрические трубки, выполненные из стекла или пластика, внутри которых находится поршень, укрепленный на толкателе. В случае объемов менее 5 мкл пробу набирают только в иглу, в которой в качестве плунжера используется вольфрамовая или стальная нержавеющая проволока. Поршень и цилиндр взаимно притерты и не требуют смазки. Герметичность шприца достигается за счет дозируемой жидкости, смачивающей сопряженные поверхности цилиндра и плунжера.

Недостатком микрошприцов является малая механическая прочность. Воспроизводимость введения проб составляет (в зависимости от опыта оператора) 1,5–2,5%.

Парофазный анализ заключается в исследовании не жидкого или твердого объекта, а контактирующая с ним газовая фаза.

Для дозирования порошкообразных проб предложены специальные микрошприцы, внутри которых имеется твердый металлический плунжер, выдавливающий пробу в инжектор. Твердый образец вводят

также в виде раствора или в виде запаянного в сплав Вуда, или залитой расплавленной пробы в металлической игле. Для исследования полимеров используют специальные пиролитические приставки.

3.2.2 Полуавтоматические дозаторы

Широко распространен метод ввода газообразных проб при помощи вращающейся шайбы и калиброванного объема. К дозаторам такого типа можно отнести обычные объемные шести- или четырехходовые краны.

Воспроизводимость таких систем составляет 0,2–0,5% (при постоянном давлении и температуре).

3.2.3 Автоматические дозаторы

Эти механизмы позволяют исключить ошибки, связанные с дозированием вручную, повысить воспроизводимость результатов и обеспечить непрерывную работу аналитического прибора без постоянного наблюдения за ним. Такие дозаторы с успехом применяются при анализе серий проб, аналогичных по составу. Емкости с пробами помещают в коллектор, который вращательным или поступательным движением перемещает одну пробу за другой под иглу микрошприца, укрепленного в устройстве, погружающем под действием электрического импульса иглу в пробу. Это же устройство набирает пробу, перемещает шприц, располагает его непосредственно над инжектором, прокалывает иглой перегородку инжектора, вводит пробу, устанавливает шприц над коллектором с чистым растворителем, промывает иглу и ждет следующей команды. Воспроизводимость площадей пиков соответствующих веществ, дозируемых таким способом, составляет примерно 1%.

Существуют многие другие способы ввода различных проб.

3.3 СТАНДАРТНЫЕ ДЕТЕКТОРНЫЕ СИСТЕМЫ

Детектор — устройство, предназначенное для обнаружения в потоке газа-носителя анализируемых веществ по какому-либо физико-химическому свойству. Отклик осуществляется за счет преобразования свойств в электрический сигнал.

Детекторы подразделяются на интегральные и дифференциальные. *Интегральный детектор* регистрирует изменение во времени суммарного количества выходящих из колонки компонентов. Хроматограмма

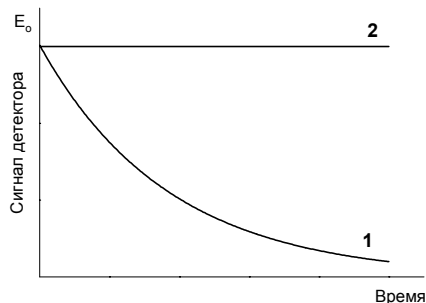


Рисунок 9 – Зависимость сигнала потоковых (1) и концентрационных (2) детекторов от времени в замкнутом объеме.

представляет собой ряд ступеней (рис. 2, б). Из-за низкой чувствительности. Большой инертности и недостаточной универсальности эти детекторы имеют ограниченное применение.

Все серийно выпускаемые газохроматографические детекторы являются **дифференциальными**. Сигнал таких детекторов пропорционален мгновенному изменению значения какого-либо свойства газового потока, а его аналоговая запись имеет вид пика. Хроматограмма, полученная с таким детектором, представляет ряд пиков (рис. 2, а), причем количество каждого компонента пропорционально площади S соответствующего пика

В процессе детектирования химическая природа молекулы анализируемого вещества может изменяться или нет. Если природа молекулы изменяется (процесс разрушения молекулы), то она может быть зарегистрирована лишь однократно (рис. 9, кривая 1). Если же природа молекулы не изменяется, то такая молекула может быть зарегистрирована детектором многократно (рис. 9, кривая 2).

Детекторы, в которых возможна многократная регистрация молекул, называются **концентрационными**, т.к. их сигнал пропорционален концентрации вещества в газе-носителе:

$$E_c = A_c \cdot C \quad (46)$$

где E_c – сигнал концентрационного детектора (мВ); A_c – чувствительность концентрационного детектора (мВ·см³/мг); C – концентрация вещества в газе-носителе (мг/см³).

Примером концентрационного детектора является детектор по теплопроводности (ДТП), в котором процесс отвода теплоты от чувствительных элементов не разрушает молекул анализируемых веществ.

Детекторы, в которых возможна лишь однократная регистрация молекул, называются **поточными**, т.к. их сигнал пропорционален потоку вещества:

$$E_j = A_j \cdot j = A_j \cdot C \cdot F \quad (47)$$

где E_j – сигнал потокового детектора (мА или мВ); A_j – чувствительность потокового детектора (мА·с/мг или мВ·с/мг); j – массовая скорость (поток) вещества через детектор (мг/с); C – концентрация вещества в газе-носителе (мг/см³); F – расход газа-носителя через детектор (см³/с).

Поток вещества — это массовая скорость вещества, т.е. масса вещества dm , поступающая в единицу времени dt :

$$J = C \cdot F = dm / dt \quad (48)$$

Физический смысл вышесказанного заключается в следующем. При использовании концентрационных детекторов важным фактором является скорость пропускания газа-носителя (чем больше скорость, тем меньшее число актов регистрации успевают претерпевать молекулы анализируемого вещества). Тогда как в потоковом детекторе эта зависимость отсутствует.

В качестве типичного примера потокового детектора можно привести ионизационно-пламенный детектор (ДИП), в котором происходит сгорание органических веществ.

3.3.1 Характеристики детекторов

Исходя из цели анализа и условий его проведения, следует выбирать такой детектор, характеристики которого соответствуют им в наибольшей степени. *Критерии оценки детекторов* общеприняты для всех систем детектирования; к ним относятся:

- чувствительность;
- минимально детектируемая концентрация (предел обнаружения)
- фоновый сигнал;
- уровень шума;
- скорость дрейфа нулевой линии;
- диапазон линейности детектора;
- эффективный объем и время отклика (быстродействие);
- селективность.

Некоторые характеристики детекторов приведены в табл. 10.

Чувствительность отражает степень взаимодействия анализируемого вещества с детектором и определяет величину сигнала, соответствующего содержанию (концентрации и потоку) вещества в газе-носителе.

Таблица 10 – Характеристики ряда детекторов, используемых в газовой хроматографии.

Детектор	Область применения	Селективность	Газ-носитель	Чувствительность	Линейный диапазон	Недостатки
ДЭЗ	Галоген-, азот- и кислородсодержащие соединения	Высокоселективен	Ar, N ₂ +10%CH ₄ , He	$10^{-12} - 10^{-13}$ г $5 \cdot 10^{-9} - 10^{-4}\%$	$10 - 10^2$	Работа с разбавленными растворами; МДРТ для ³ H < 150°C; высокие требования к г-н; зависимость от скорости г-н и т-ры, применение в основном для качественного анализа.
ДИП	Органические соединения	Универсальный	He, H ₂ , N ₂	10^{-10} г $10^{-6} - 99\%$	$10^6 - 10^8$	Особые условия стабильности и постоянство потока г-н и воздуха; слабый отклик на соединения, насыщенные кислородом.
ДТИ	Фосфор-, серо- и азотсодержащие соединения	Селективен $10^2 - 10^5$	He, N ₂	10^{-12} г $10^{-6}\%$	$10^3 - 10^4$	Необходимость калибровки.
ПФД (394 нм)	Серосодержащие соединения	Высокоселективен $10^3 - 10^4$	He, N ₂	10^{-11} г $10^{-6} - 10^{-20}\%$	$10^2 - 10^3$	
ПФД (526 нм)	Фосфорсодержащие соединения	Высокоселективен $10^5 - 10^7$	He, N ₂	10^{-11} г $10^{-7} - 0,1\%$	$10^3 - 10^4$	
ДТП	Соединения различных классов	Универсальный	He, N ₂	$10^{-6} - 10^{-9}$ г $10^{-3} - 100\%$	10^4	Чувствительность к температуре; используется только для некорродирующих веществ
ГИД	Пары соединений различных классов	Универсальный	He	$10^{-11} - 10^{-12}$ г $10^{-6} - 0,1\%$	$10^3 - 10^4$	Высокие требования к г-н; неустойчивость в работе; высокое напряжение (750–2000 В); необходимость калибровки.

На практике чувствительность чаще всего определяют по площади сигнала детектора в зависимости от типа детектора.

Чувствительность концентрационного детектора (мВ·мл/мг) рассчитывается по формуле:

$$A_c = S \cdot \nu \cdot F / (q \cdot \varpi) \quad (49)$$

где S – площадь пика, см²; ν – чувствительность регистратора, мВ/см; F – скорость газа-носителя, см³/с; q – количество введенной пробы, мг; ϖ – скорость протягивания ленты, см/с.

Значения чувствительности потоковых детекторов (мВ·с/мг) определяется выражением:

$$A_j = S \cdot \nu / (q \cdot \varpi) \quad (50)$$

где S , ν , q и ϖ – те же, что и в уравнении (49).

Применение микронасадочных и капиллярных колонок требует высокочувствительные детекторы (например, ДИП), а при работе с насадочными колонками — средней чувствительности (ДТП, детектор по плотности).

Сигнал, который дает детектор хроматографа, работающего в каком-либо режиме, в отсутствие анализируемых веществ, называется **фоновым**. Графическим отражением фонового сигнала является нулевая линия, регистрируемая самописцем.

Фоновый сигнал — это реакция детектора на состав газового потока, поступающего в детектор. Фоновый сигнал есть у каждого детектора, однако, нельзя измерить фоновый сигнал ДТП, т.к. его измерительная схема построена на разностном (компенсационном) принципе и на выходе детектора регистрируется результат сравнения сигналов двух линий.

Из-за естественной нестабильности параметров хроматографического режима и воздействия на сигнал детектора различных помех, фоновый сигнал детектора проявляет различной степени нестабильность, что отражается на качестве нулевой линии.

Нестабильность фонового сигнала может выражаться двояким образом:

- среднее значение фонового сигнала поддерживается постоянным в течение длительного времени, однако в течение коротких промежутков времени фоновый сигнал совершает быстрые хаотические отклонения от среднего значения в обе стороны;
- фоновый сигнал медленно изменяется в одну сторону.

Под быстрым, короткопериодным изменением сигнала понимается изменение, происходящее за период времени, соизмеримый с длительностью хроматографического сигнала или за меньший период. Под медленным изменением фонового сигнала понимают его изменение за время, во много раз превышающее длительность хроматографического сигнала.

Быстрое хаотическое изменение фонового сигнала называется **шумом**. Шум наблюдается на самописце как разностороннее смещение нулевой линии. Для измерения шума необходимо устройством компенсации установить перо самописца в нулевое положение и включить предел измерения, на котором наблюдается колебание нулевой линии. На самописце шум измеряется как ширина нулевой линии. Величина шума, выраженная в единицах сигнала детектора, называется **уровнем флуктуационного шума (Φ)** и рассчитывается (в %) по формуле:

$$\Phi = (\delta/L_{\text{шк}}) \cdot 100 \quad (51)$$

где δ – амплитуда шума, мм; и $L_{\text{шк}}$ – полная ширина шкалы самописца, мм.

Медленное одностороннее изменение фонового сигнала называется **дрейфом**. Величина дрейфа (D) оценивается по скорости дрейфа и измеряется как изменение величины фонового сигнала, приведенное к единице времени (обычно к 1 ч):

$$D = (M/L_{\text{шк}} t) \cdot 100 \quad (52)$$

где M – смещение нулевой линии, мм;

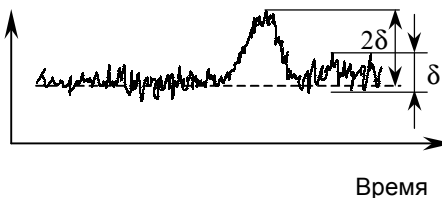
Ориентировочная норма дрейфа должна составлять не более 10% за 1 ч.

Шум оказывает заметное влияние на результаты анализа при определении малых количеств веществ, т.к. полезные хроматографические сигналы приходится выбирать на фоне колебаний (флуктуаций) нулевой линии.

Принято считать, что минимальный сигнал, доступный обнаружению, должен по высоте превышать уровень шума (δ) в два раза (рис. 10).

Концентрация, или поток, или количество вещества, вызывающее сигнал детектора, в два раза превышающий уровень шума, называют **пределом обнару-**

Рисунок 10 – Наименьший детектируемый полезный сигнал.



жения. Он зависит от процесса отбора пробы, ее обработки, устройства ввода пробы, типа колонки, уровня шума.

Для концентрационного детектора чаще всего предел обнаружения выражают как концентрацию:

$$C_{\min} = E_{\min}/A_c = 2\delta/A_c \quad (53)$$

Для потокового детектора предел обнаружения выражают или через поток, или через концентрацию вещества:

$$J_{\min} = E_{\min}/A_j = C_{\min} \cdot F; \quad C_{\min} = 2\delta/(A_j \cdot F) \quad (54)$$

Предел детектирования выражают в различных единицах: мг/мл, мл/мл, % (по объему), ppm (млн⁻¹).

В технической литературе предел обнаружения называют еще пороговой чувствительностью или порогом чувствительности.

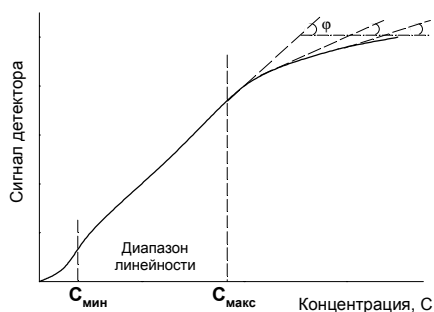
Минимальная концентрация, доступная обнаружению, рассчитанная из вышеприведенных выражений — это концентрация вещества в потоке газа-носителя в детекторе.

Концентрация вещества в пробе должна быть больше в соответствии с коэффициентом уменьшения $K_{ум}$:

$$C_{\min \text{ в пробе}} = C_{\min} \cdot K_{ум} \quad (55)$$

Для определения $K_{ум}$ необходимо в конкретном режиме работы хроматографа провести анализ смеси с известным содержанием вещества $C_{проб}$.

Если связь сигнала детектора с концентрацией вещества выражается прямой линией, то детектор называется линейным. **Линейный диапазон детектора** — отношение максимальной концентрации вещества к минимальной ($C_{\max}/C_{\min}$) в потоке газа-носителя на выходе из колонки и сигналом детектора (рис. 11). В пределах диапазона линейности чувствительность детектора не зависит от концентрации. Для любого детектора



чувствительность к анализируемому веществу определяется угловым коэффициентом $A = \operatorname{tg} \phi$. Для любой точки линейного участка кривой тангенс угла наклона одинаков. Однако с превышением определенной кон-

Рисунок 11 — Зависимость сигнала детектора от концентрации анализируемого вещества.

центрации детектор теряет линейность, а его чувствительность становится зависимой от концентрации вещества, т.е. площадь пика будет изменяться непропорционально количеству вещества. Поэтому количественный анализ в условиях нелинейной работы детектора отличается большей погрешностью и требует более детальной калибровки в области рабочих концентраций.

Абсолютное значение концентрации, с превышением которой чувствительность отличается от ранее постоянного значения более 3%, называется верхним пределом линейности детектора.

Величина диапазонов линейности различна для разных детекторов и зависит от природы анализируемого вещества. Поэтому важно в каждом конкретном случае соотносить рабочую концентрацию с $C_{\max}$.

Быстродействие (инерционность) — способность детектора быстро реагировать на резкое изменение концентрации вещества в потоке газа-носителя, проходящего через детектор. Искажение сигнала из-за инерционности проявляется сильнее при записи узких и высоких пиков, и практически отсутствуют при регистрации широких пиков. Инерционность является следствием ограниченной скорости физических или физико-химических процессов, определяющих механизм детектирования (например, для ДТП).

По возможности обнаружения веществ детекторы подразделяются на универсальные и селективные.

Селективность — характеристика, определяющая сигнал детектора по отношению к различным соединениям. Селективные детекторы имеют повышенную чувствительность (как правило, не меньше, чем на порядок) к некоторым классам или группам соединений. Например детектор электронного захвата (ДЭЗ) избирательно регистрирует галоген- и азотсодержащие соединения, пламенно-фотометрический детектор ПФД — фосфор- и серосодержащие вещества).

Различие чувствительности детектора к веществам оценивается коэффициентом относительной чувствительности:

$$K_{\text{отн}} = \frac{A_x}{A_{\text{ст}}} \quad (56)$$

где A_x — чувствительность детектора к какому-либо веществу; $A_{\text{ст}}$ — чувствительность детектора к веществу, выбранному за стандарт.

Для универсальных детекторов $K_{\text{отн}}$ для самых различных веществ должна быть в пределах одного порядка. Универсальными детекторами к органическим веществам относятся ДТП и ДИП, однако они не чувствуют

веществ неорганической природы, т.е. проявляют селективность (избирательность).

Селективность детектора можно оценить коэффициентом селективности как чувствительность детектора к анализируемому веществу A_x по отношению чувствительности к веществу присутствующему в пробе (например к растворителю) $A_{пр}$.

$$K_{сел} = A_x / A_{пр} \quad (57)$$

3.3.2 Оценка состояния детектора по его основным характеристикам

Успех анализа во многом определяется выбором хроматографического режима и состояния аппаратуры, в частности детектора.

Оценка состояния детектора зависит, главным образом, от режима его работы: условий газового и электрического питания, температуры, чистоты газового потока.

Фоновый сигнал детектора определяется содержанием примесей в газовом потоке и их природой, т.е. чувствительностью к ним детектора. Величина фонового сигнала зависит от режима работы детектора и колонки.

Уровень шума зависит от многих причин, которые можно разбить на две группы.

1) Шум электрической природы возникает при взаимодействии сигнала за счет помех из внешних электрических цепей и питающей сети, из-за плохого состояния электрических контактов, плохого заземления блоков хроматографа, вибрации прибора, вследствие попадания в детектор механических частиц. Величина электрического шума не зависит от величины фонового сигнала.

2) Другой причиной шума является неизбежная в определенных пределах нестабильность режима работы хроматографа. Колебание каждого из параметров имеет случайный характер и их результатом является изменение газового состава в детекторе вследствие неравномерного уноса неподвижной жидкой фазы из колонки, а также загрязняющих веществ, поступающих в хроматограф с исходными газами и пробой. Такие колебания газового состава в детекторе вызывают колебания фонового сигнала, соизмеримые по длительности с хроматографическим пиком. Такого рода шум называется вещественным.

Шум, аналогичный вещественному, может быть вызван неисправностью отдельных блоков хроматографа, например газовых.

Дрейф нулевой линии также, является следствием изменения газового состава детектора. Вследствие накопления в газовых линиях малолетучих примесей, попадают в детектор, вызывая изменения фонового сигнала. В случае увеличения фонового сигнала (нулевая линия смещается в направлении записи пиков) дрейф называют положительным.

Предел обнаружения является расчетной характеристикой, связывающей уровень шума и чувствительность детектора.

Предел обнаружения детектора (предел детектирования) характеризует аналитические возможности только самого детектора, не учитывая условий работы колонки. В то же время, режим работы колонки может существенно увеличить уровень шума и ограничить чувствительность детектора.

Изменение режима работы хроматографа изменяет не только предел обнаружения ($C_{\min}$), но и верхний предел линейности детектора ($C_{\max}$). Как правило, увеличение фонового сигнала приводит к снижению $C_{\max}$.

Природа анализируемого вещества также влияет на линейность детектора. Чем большую чувствительность имеет детектор к какому-либо веществу, тем меньше по этому веществу диапазон линейности.

Поскольку характеристики детектора зависят и от режима работы и колонки, и отдельных блоков хроматографа, то по их величинам оценивается работоспособность хроматографа в целом.

Несмотря на то, что разработано много типов детекторов (более 50), в настоящее время мы имеем дело максимум с четырьмя-пятью из них. Рассмотрим наиболее распространенные типы детекторов.

3.3.3 Принципы ионизационного детектирования

Ионизационные методы детектирования наиболее универсальны, с высокой чувствительностью, используются для определения малых количеств анализируемых веществ, пригодны для соединения как с капиллярными, так и насадочными колонками.

В основе этих методов лежит зависимость электрической ионизированной газовой среды от ее состава. Сигналом ионизационных детекторов является изменение силы тока, вызванное введением в детектор анализируемого вещества. **Ионный ток** — электрический ток, создаваемый между электродами детектора всеми заряженными частицами (ионами или электронами) в газе.

Ионный ток возникает в детекторе под действием какого-либо источника ионизации (радиоактивного изотопа, пламени, разряда, фотоио-

низации, электронной и ионной эмиссии) и электрического поля (разности потенциалов) между электродами детектора.

В любой момент времени в детекторе достигается равновесие, характеризующиеся тем, что скорость образования заряженных частиц равна сумме скоростей рекомбинации и сбора заряженных частиц на электродах детектора. Скорость сбора определяет ток детектора. В ионизационных детекторах создаются такие условия, при которых либо плотность (концентрация) заряженных частиц, либо скорость переноса их в электрическом поле зависит от состава газа.

Зависимость силы тока (I) в газовой среде от приложенного напряжения (U) называется *вольт-амперной характеристикой* (рис. 12).

I-зона — слабое поле — неполный сбор заряженных частиц со значительной частью их рекомбинации. При постоянной скорости образования и рекомбинации заряженных частиц в детекторе и постоянном напряжении на электродах ток детектора определяется скоростью переноса заряженных частиц в направлении поля. Скорость зарядов в направлении поля характеризуется подвижностью, которая численно равна скорости, приобретаемой зарядом в поле напряженностью 1В/см. Подвижность пропорциональна величине заряда и обратно пропорциональна массе частиц.

Попадая в детектор вещество вызывает увеличение числа рекомбинаций и уменьшение подвижности заряженных частиц. При этом ток детектора падает. Это уменьшение тока регистрируется на хроматограмме как пик данного вещества. На этом принципе основана работа детектора электронного захвата (ДЭЗ).

Следующая зона — участок насыщения (**II зона**), для которого характерно отсутствие рекомбинации и полный сбор всех образующихся заряженных частиц. В этом случае ионный ток определяется только скоростью образования зарядов. Сигналом детекторов, работающих на этом участке вольт-амперной характеристики, является увеличение тока, вызванное значительным возрастанием скорости образования заряженных

частиц вследствие ионизации анализируемых компонентов, поступающих в детектор. При этом ионизация газа-носителя

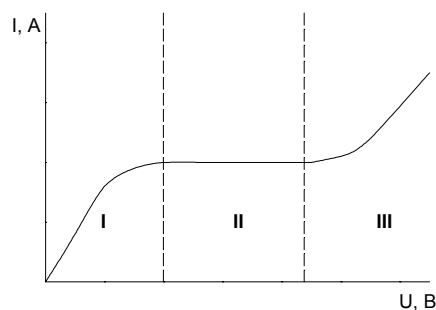


Рисунок 12 – Вольт-амперная характеристика ионизационных детекторов:

I – участок неполного сбора заряженных частиц; II – участок насыщения; III – участок вторичной ионизации.

должна отсутствовать и уровень фонового тока должен быть минимальным. Представителями этого типа детекторов является ДИП, термоионный (ДТН), пламенно-фотометрический детектор (ПФД) и др.

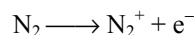
Последний участок (*III зона*) при введении в детектор анализируемых веществ характеризуется высокой напряженностью поля за счет размножения зарядов (вторичной ионизации). В этой области работают аргонные и гелиевые ионизационные детекторы.

3.3.4 Детектор электронного захвата (ДЭЗ)

Детектор электронного захвата является наиболее часто используемым селективным газохроматографическим детектором. ДЭЗ применяется для определения соединений, обладающих большим сродством к электронам. Эти вещества захватывают свободные тепловые электроны в камере с радиоактивным источником с образованием стабильных ионов. Он успешно применяется для определения малых концентраций галоген-, азот- и кислородсодержащих веществ.

Система детектирования по захвату электронов включает: ионизационную камеру (ячейку детектора, рис. 13) и источник поляризующего напряжения (блок питания).

В ячейке детектора газ-носитель под воздействием β -излучения источника ^{63}Ni ионизируется с образованием положительных ионов и свободных электронов:



Условия электронного питания детектора таковы, что процесс ионизации частично обратим за счет протекания ион-электронной реком-

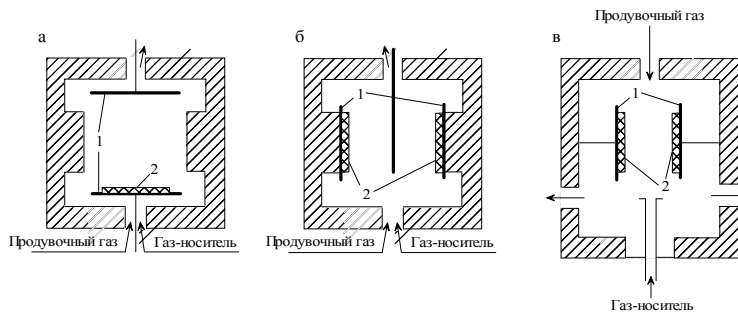
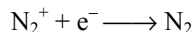


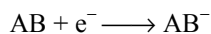
Рисунок 13 – Схема детекторов электронного захвата Ловелока (а), коаксиального (б), и Грегори (в):

1 – электроды (анод), 2 – радиоактивный источник (катод ^{63}Ni).

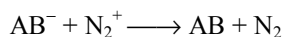
бинации:



При появлении в детекторе молекул анализируемого вещества (AB), обладающего сродством к электрону, происходит захват электронов:



Подвижность массивных отрицательных ионов AB^- на 4–5 порядков меньше подвижности электронов, что приводит в ДЭЗ к замене электрон-ионной рекомбинации на ион-ионную:

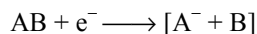


Скорость образования заряженных частиц определяется величиной равной сумме скоростей процессов рекомбинации и сбора зарядов на электродах детектора. Последняя величина определяет ток, регистрируемый во внешней цепи детектора электрометром. При постоянном напряжении питания детектора ток, протекающий через него, в результате захвата электронов электроноакцепторными веществами снижается, так как скорость рекомбинации возрастает.

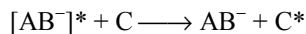
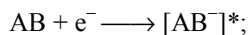
Чувствительность ДЭЗ определяется эффективностью захвата электрона и зависит от большого числа различных факторов: природы анализируемого вещества и газа-носителя, условия электрического и газового питания, чистоты газа, температуры детектора.

При захвате электрона нейтральной молекулой с образованием отрицательного иона потенциальная энергия частицы уменьшается. Разность энергий нейтральной молекулы и соответствующего ей отрицательного иона называется *сродством к электрону*, а вещества, молекулы которых способны захватывать электроны — *электроноакцепторами*. Вероятность захвата электрона молекулой зависит от энергии электрона и природы молекулы, причем захват может осуществляться в процессах следующих типов:

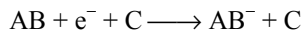
- **диссоциативный захват** — захват электрона молекулой с образованием возбужденного иона и последующей его диссоциацией:



- захват электрона с образованием возбужденного иона и последующей потерей возбуждения при столкновении с третьей частицей:



- захват электрона при тройном столкновении:



- радиационный захват электрона нейтральным атомом:



Радиационный захват маловероятен и, как правило, не происходит. Вероятность захвата резко возрастает, если в процессе захвата принимает участие третья частица. Способность атомов или молекул выполнять роль третьей частицы зависит от того, могут ли они поглощать освобождающуюся при захвате электронов энергию. Благодаря большому числу внутренних степеней свободы молекулы эффективнее, чем атомы, и выполняют роль третьей частицы. Когда освобождающаяся при захвате энергия полностью идет на увеличение потенциальной энергии третьей частицы, наблюдается резонанс — резкое увеличение захвата электрона.

Когда электрон захватывается молекулой, избыток энергии может идти на возбуждение электронных уровней молекулярного иона. Если эта энергия превосходит энергию диссоциации иона, то образующийся возбужденный ион диссоциирует на нейтральную частицу и отрицательный ион. Вероятность диссоциативного захвата обычно сильно зависит от энергии электрона. Если освобождаются при захвате энергия (сумма кинетической энергии электрона и сродства молекулы к электрону) равна или больше энергии диссоциации, то захват происходит. Однако при больших энергиях электрона диссоциативный захват не происходит, поэтому зависимость вероятности диссоциативного захвата от энергии электрона имеет характер, близкий к резонансному.

Энергия электрона, при которой наблюдается резонансное увеличение захвата, для разных веществ различна. Например, у соединений, легко диссоциирующих и имеющих большое сродство к электрону, вероятность захвата максимальна при практически нулевой энергии электрона. Если же энергия диссоциации велика, а сродство к электрону мало, вероятность диссоциативного захвата может быть большой лишь при значительных энергиях электронов.

Таким образом, для детектирования большого числа веществ, обладающих различным сродством к электрону, необходимо обеспечить условия для наличия в детекторе электронов широкого спектра энергий. Особенно сильное влияние на энергию электронов оказывает природа газа-носителя.

Выбор газа-носителя

Установлено, что использование в качестве газа-носителя азота и аргона более предпочтительно, однако можно применять и гелий, хотя чувствительность при этом, как правило, ниже. Именно в этих газах энергия электронов изменяется в широких пределах, что обеспечивает благоприятные условия для их захвата различными электроноакцепторными веществами.

Природа газа-носителя влияет на чувствительность детектирования: во-первых, в разных газах при неизменных условиях хроматографирования различна энергия и подвижность электронов, а, следовательно, и вероятность захвата неодинакова. Во-вторых, в разных газах различна подвижность ионов, а, следовательно, и скорость процессов рекомбинации. В-третьих, радиоактивное излучение проникает в разные газы на различное расстояние, т.е. поглощение излучения и ионизация будут различны.

Связь характеристик ДЭЗ с условиями электрического питания и активности источника β -излучения

Нужная величина тока достигается конструкцией детектора: форма электродов и расстояние между ними, мощность радиоактивного источника, способ его размещения и т.д.

Первоначально предложенные конструкции ДЭЗ работали в режиме постоянного напряжения питания. Зависимость чувствительности ДЭЗ от напряжения питания носит четко выраженный экстремальный характер. Максимум чувствительности соответствует напряжению питания, при котором фоновый ток составляет примерно 85% от тока насыщения детектора, т.е. в области перехода от тока проводимости к току насыщения.

Чувствительность возрастает с увеличением активности источника, при этом максимум чувствительности может наблюдаться при близких степенях приближения к току насыщения. Следовательно, захват возрастает с увеличением энергии электронов и в детекторах с малой активностью источника детектирование таких веществ может не происходить.

Ловелок был предложен и получил широкое применение режим импульсного электрического питания. На чувствительность при этом сложным образом влияют амплитуда, длительность и период импульсов. При детектировании в режиме импульсного питания дополнительные требования предъявляют к газу-носителю. Необходимо, чтобы скорость дрейфа электронов была как можно более высокой и за короткий импульс

можно было более полно осуществить их сбор. Для этого метода рекомендуется использовать аргон с добавлением 5–10% метана.

Особое место среди методов электронно-захватного детектирования занимает детектирование при постоянной скорости рекомбинации.

Влияние температуры детектора и расхода газа-носителя на характеристики ДЭЗ

Повышение температуры детектора приводит к уменьшению плотности газа, увеличению длины свободного пробега электронов и ионов, что облегчает сбор зарядов и увеличивает крутизну вольтамперной характеристики в области тока проводимости. В результате максимальная чувствительность, обеспечиваемая током детектора, равным 85% тока насыщения, при повышении температуры достигается при меньших напряжениях. Таким образом, при постоянном напряжении питания увеличение температуры ДЭЗ может приводить как к увеличению, так и к уменьшению чувствительности. Зависимость чувствительности ДЭЗ от температуры может иметь и экстремальный характер с максимум при температуре, для которой установленное напряжение питания является оптимальным.

Аналогичные зависимости наблюдаются и при изменении расхода газа-носителя, хотя достаточно убедительные объяснения в литературе отсутствуют. Таким образом, при изменении любого из факторов, от которых зависит крутизна вольтамперной характеристики ДЭЗ на участке тока проводимости (температура, расход газа-носителя, его давление, состав), оптимальный режим работы ДЭЗ не сохраняется и его показания изменяются.

Работа ДЭЗ в режиме постоянной скорости рекомбинации

Как указывалось выше, в ионизационных детекторах в любой момент времени сумма скоростей образования, рекомбинации и сбора заряженных частиц равна нулю. Если ток через детектор искусственно поддерживать постоянным, то при постоянной скорости образования заряженных частиц скорость их рекомбинации неизбежно будет постоянной. Захват электронов электроноакцепторным веществом с образованием малоподвижных отрицательных ионов приводит к уменьшению электропроводности детектора (увеличению сопротивления) и поддержание тока детектора постоянным возможно лишь при соответствующем росте напряжения электрического поля, препятствующем увеличению скорости рекомбинации. В соответствии с принципом работы этот детектор полу-

чил название *детектора постоянной скорости рекомбинации (ДПР)*. Оба варианта детектора (ДЭЗ и ДПР) имеют общий механизм образования сигнала, при этом в классическом ДЭЗ фиксируется уменьшение тока при постоянном напряжении питания, а в ДПР — при постоянной величине тока через детектор измеряется увеличение напряжения на нем.

Несмотря на общий механизм образования сигнала ДПР имеет перед ДЭЗ ряд существенных преимуществ:

1) Когда детектор работает в режиме постоянной скорости рекомбинации, отсутствует одна из важнейших причин ограничения линейности: зависимость чувствительности ДЭЗ от тока. При детектировании в режиме постоянного напряжения питания (ДЭЗ) с увеличением концентрации анализируемого вещества уменьшается ток и уменьшается чувствительность.

2) Гораздо меньшая восприимчивость показаний ДПР к изменению параметров его режима: температуры, давлению, скорости и состава газаносителя. Это связано с тем, что независимо от условий опыта ДПР работает в режиме, близком к оптимальному, когда ток детектора составляет ~85% тока насыщения.

Фоновый сигнал ДПР является характеристикой, позволяющей оценивать состояние как детектора, так и всего хроматографа в целом. Величина фона ДПР определяется чистотой исходного газа-носителя, газовых линий хроматографа и свойствами НЖФ.

Кислород повышает фон ДПР, при этом чувствительность детектора к различным веществам изменяется по-разному. Повышение содержания кислорода увеличивает чувствительность ДЭЗ к монохлоралканам, полициклическим ароматическим и другим углеводородам, дихлорметану и двуокиси углерода. В ДПР увеличение фона означает увеличение напряженности электрического поля, т.е. увеличение энергии электронов, что может привести к снижению чувствительности к полихлорированным углеводородам и к увеличению чувствительности к насыщенным углеводородам. В любом случае повышенное содержание кислорода приводит к увеличению уровня шума и снижению верхнего предела линейности детектора.

Повышенное содержание воды практически не сказывается на величине фона ДПР, однако резко увеличивает уровень шума детектора и дрейф нулевой линии.

Органические примеси, и в первую очередь масла, ухудшают стабильность нуля и величину фона и чувствительности детектора.

Существенным недостатком ДЭЗ, а значит и ДПР является малый диапазон зависимости сигнала от концентрации вообще и очень узкий диапазон линейности в частности. Ограничение диапазона сверху связано

прежде всего с самим механизмом детектирования. Очевидно, что сигнал вообще перестает изменяться, когда в детектор вводится столько вещества, что оно способно связывать больше электронов, чем образуется в ионизационной камере под воздействием радиоактивного источника.

Причем, чем большую чувствительность имеет детектор к веществу, тем меньше диапазон линейности. Это объясняется относительно большим числом электронов, связываемых единицей массы вещества, обладающего большим сродством к электрону.

3.3.5 Пламенно-ионизационный детектор (ДИП)

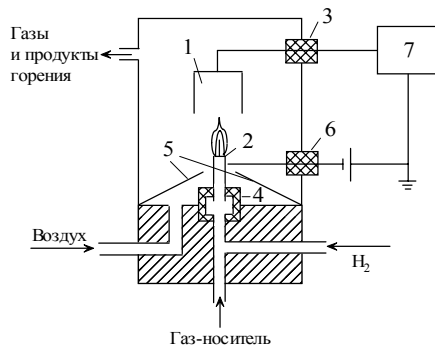
В основе ДИПа лежит зависимость электрической проводимости ионизированного газа от его состава. Сигналом детектора является изменение ионного тока, вызванное введением в детектор анализируемого вещества. Газ-носитель в смеси с анализируемой смесью и водородом подается в форсунку горелки, где происходит ионизация. Одновременно горелка выполняет функцию одного из электродов, а нержавеющая пластинка, свернутая в цилиндр, укрепленная на небольшом расстоянии над пламенем, образует второй — собирающий электрод.

Детектор представляет собой камеру (рис. 14), в которой поддерживается водородное пламя, являющееся источником ионизации. В камеру вводятся необходимые для поддержания пламени водород и воздух: водород подается в детектор в смеси с газом-носителем через канал горелки, а воздух — через другой канал и распределяется равномерно диффузором. Горелка является одним из электродов, она изолирована от корпуса детектора и соединена с источником стабилизированного напряжения. Второй электрод, называемый коллектором, расположен над горелкой. Во внешнюю цепь электрода детектора включен электрометр, измеряющий ток между электродами детектора.

Поскольку в пламени чистого водорода число ионов мало, сопротивление межэлектродного газового пространства очень велико и ток очень мал. Этот ток, возникающий за счет

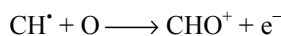
Рисунок 14 — Схема ионизационно-пламенного детектора:

1 — электрод-коллектор; 2 — горелка;
3 — изолятор электрода-коллектора; 4 —
изолятор горелки; 5 — диффузор; 6 — изолятор
питания; 7 — электрометр.

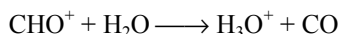


ионизации примесей, содержащихся в газе-носителе, водороде и воздухе, является постоянным фоновым током детектора. При внесении с газом-носителем из колонки анализируемых органических веществ число ионов в пламени резко увеличивается, сопротивление пламени падает и во внешней цепи детектора регистрируется соответствующее возрастание ионного тока.

В нижней части зоны пламени (у среза горелки) происходит термическая деструкция органических молекул. Окисление продуктов деструкции сопровождается химионизацией, при которой энергия химической реакции окисления не распределяется в окружающей среде, нагревая ее, а направлена только на ионизацию:



Основными носителями положительных зарядов в пламени являются ионы гидроксония, которые образуются при взаимодействии ионов CHO^+ с водой:



Именно ионы гидроксония обуславливают электрическую проводимость пламени. Однако примесь паров воды в газах, питающих детектор, снижает чувствительность ДИПа к органическим веществам. Такой эффект связан с уменьшением температуры пламени вследствие увеличения теплоемкости газа. Кроме того, в присутствии паров воды в пламени образуются малоподвижные гидратированные ионы гидроксония $\text{H}_3\text{O}^+ \cdot \text{H}_2\text{O}$ и $\text{H}_3\text{O}^+ \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, из которых не все достигают коллекторного электрода.

3.3.6 Термоионный детектор (ДТИ)

До настоящего времени ДТИ — это один из наиболее высокочувствительных и селективных детекторов к фосфорорганическим веществам. Кроме того, получили все большее распространение варианты термоионного детектора, проявляющие высокую чувствительность и селективность к азот- и галогенсодержащим веществам.

Конструкции детекторов (рис. 15) различаются главным образом способом размещения и нагрева соли щелочного металла, а также геометрией детектора, причем все эти различия оказывают весьма существенное влияние на его характеристики — стабильность, чувствительность, селективность. Щелочная соль в виде таблетки или нанесенная на какой-либо держатель, выполненный из пористого металла или керамики

Рисунок 15 – Схема термоионного детектора:

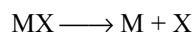
1 – солевой источник; 2 – электрод-коллектор

в виде спирали, сетки или петли, может нагреваться либо водородным пламенем, либо электрическим током.

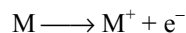
В качестве источника ионов щелочного металла пригодны почти все его соли и гидроксиды.

Механизм образования сигнала в ДТИ изучен недостаточно не только для проведения каких-либо количественных сопоставлений, но и для качественного единообразного толкования отклика детектора на вещества различной природы. Вероятнее всего, что в рамках общего, весьма сложного механизма ионизации в пламени водорода в присутствии соединений щелочных и щелочноземельных металлов, регистрация веществ различной природы происходит по различным механизмам.

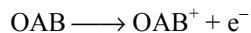
Начальными стадиями процесса детектирования являются стадии испарения соли щелочного металла и ее термическая диссоциация:



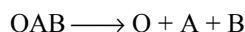
с последующей ионизацией:



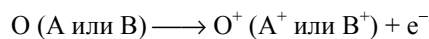
Потенциалы ионизации щелочных и щелочноземельных металлов относительно невелики и находятся в пределах (3–6 эВ). Потенциалы ионизации органических веществ всегда выше (9–13 эВ), чем и объясняется низкая степень их ионизации в ДТИ по схеме:



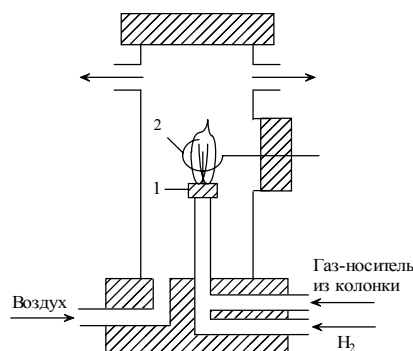
Поступающие в детектор органические вещества разрушаются:



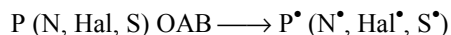
И продукты их разрушения также могут ионизироваться:



Степень ионизации продуктов разрушения большинства анализируемых веществ по этой реакции также невысока, как и по предыдущей.



Молекулы анализируемых веществ, содержащие гетероатомы, в водородном пламени участвуют в специфических реакциях:



Продукты этих реакций обладают весьма широким спектром потенциалов ионизации (0,5–13 эВ). Исключительно высокая чувствительность и селективность ДТИ к фосфорорганическим веществам объясняется образованием с высоким выходом радикала $P^{\bullet}$, потенциал ионизации которого очень мал — 0,42 эВ. Продукты сгорания серосодержащих соединений обладают весьма высокими потенциалами ионизации (>10 эВ), чем и объясняется малая степень ионизации этих соединений. Механизм селективного обнаружения серы с помощью ДТИ основан на образовании термостойких соединений, вследствие чего концентрация щелочного металла в пламени и ток ионизации снижаются. Заметную чувствительность ДТИ к галогенсодержащим соединениям объясняют увеличением эмиссии положительных ионов щелочных металлов под действием галогенидов.

Чувствительность и селективность ДТИ к веществам различной природы зависит от большого числа факторов:

- режима газового питания детектора;
- способа размещения и нагрева солевого источника;
- природы соли или иного источника ионов металла;
- условий электрического питания;
- конструкции электродов;
- расстояния между ними и т.д.

Поэтому для ДТИ различных конструкций показания могут весьма сильно различаться. Более того, характеристики каждого конкретного детектора так сильно зависят от параметров хроматографического режима, что добиться высокой воспроизводимости сигнала практически невозможно.

В процессе работы с ДТИ задают и контролируют следующие параметры его режима: температуру основания детектора (перехода) и расходы газа-носителя, водорода и воздуха.

Чувствительность и предел обнаружения ДТИ зависят от количества паров соли в пламени детектора, а, следовательно, от температуры солевого источника. Испарение соли происходит под воздействием подогрева основания детектора и тепла водородного пламени.

Зависимость чувствительности ДТИ от расхода воздуха носит монотонно возрастающий характер, причем увеличение расхода свыше 150

см³/мин практически не изменяет чувствительность, однако не следует задавать чрезмерно большой расход воздуха, а поддерживать его на уровне 160–180 см³/мин.

Расход водорода чрезвычайно сильно влияет на показатели ДТИ: увеличение расхода водорода на 1 см³/мин увеличивает чувствительность до 10 раз. Поэтому для получения стабильных и воспроизводимых показаний необходимо тщательно стабилизировать расход водорода. Погрешность задания или нестабильность поддержания расхода водорода в 0,1–0,2 см³/мин изменяет чувствительность на 30–40%, в результате чего детектор требует довольно частой градуировки.

Увеличение расхода газа-носителя при постоянном расходе водорода уменьшает температуру пламени, степень испарения соли и, как следствие: чувствительность ДТИ. Выбрав оптимальной с точки зрения хроматографического разделения и длительности анализа расход газа-носителя, необходимо изменением расхода водорода обеспечить достаточную чувствительность детектора. Оптимальный расход водорода находится в диапазоне 14–16 см³, мин в зависимости от температуры основания ДТИ.

Увеличение температуры ДТИ увеличивает количество паров соли в пламени и поэтому чувствительность детектора с повышением температуры расход водорода несколько уменьшают. В противном случае интенсивное испарение соли приведет к неоправданному сокращению службы солевого источника.

Изменение режима газового питания и температурного режима ДТИ изменяет не только абсолютное значение чувствительности, но и относительную чувствительность, а также селективность к различным соединениям. Как правило, увеличение температуры и расхода водорода приводит к увеличению чувствительности к азотсодержащим веществам в большей степени, чем к фосфорорганическим, поэтому при анализе фосфорорганических соединений рекомендуют задавать температуру ДТИ 320°C и расход 15–16 см³/мин, а при анализе азотсодержащих соединений температуру ДТИ 390°C и расход водорода 14–15 см³/мин.

Уровень шума ДТИ возрастает с увеличением расхода водорода непропорционально увеличению чувствительности, поэтому можно определить некий оптимальный расход водорода, обеспечивающий наименьший предел обнаружения. Особенно сильная зависимость шума от расхода водорода наблюдается для свежего солевого источника, однако в процессе эксплуатации эта зависимость уменьшается, что позволяет добиваться меньших пределов обнаружения. Для увеличения службы солевого источника рекомендуется работать при возможно меньших расходах

водорода, обеспечивающих минимально достаточную для конкретной аналитической задачи чувствительность.

При работе с ДТИ не следует использовать летучие НЖФ, а также НЖФ, содержащие азот, фосфор и галогены, т.к. они дают большое значение фона в сочетании с низкой чувствительностью, большим уровнем шума и малым верхним пределом линейности детектора.

3.3.7 Пламенно-фотометрический детектор (ПФД)

ПФД является селективным по отношению к фосфор- и серосодержащим веществам. Принцип действия основан на измерении свечения водородного пламени при сгорании в нем фосфор- и серосодержащих соединений. Различие условий сжигания в ПФД и ДИП состоит в том, что в ПФД пламя обогащено водородом, в то время как в ДИП оно обогащено кислородом.

Конструктивно ПФД представляет собой сочетание ячейки ДИП с оптической схемой измерения светового потока (рис. 16). Световой поток сначала проходит интерференционный фильтр, который поглощает фоновое излучение пламени, после чего поступает на чувствительный элемент фотоумножителя. Полученный таким образом фототок направляется в электрометрический усилитель и далее поступает на самопишущий потенциометр.

Выбор измеряемой длины волны определяется характером эмиссионного спектра пламени фосфор- и серосодержащих соединений, имеющих максимум соответственно при 526 и 394 нм. Спектральное выделение этих полос производится интерференционными светофильтрами. Защита оптических фильтров от высокой температуры обеспечивается специальной кварцевой или пирексовой насадкой, размещенной над горелкой в зоне водородного пламени или увеличением с помощью световодов расстояния между зоной пламени и фотоумножителем.

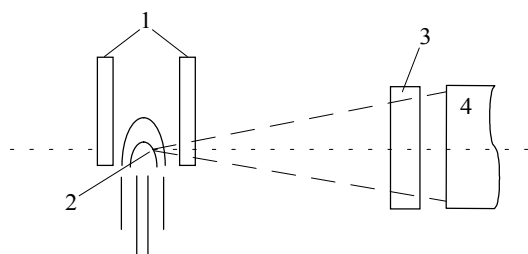


Рисунок 16 — Оптическая схема пламенно-фотометрического детектора:

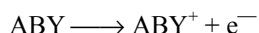
1 — кварцевая трубка; 2 — зона световой эмиссии; 3 — интерференционный фильтр; 4 — фотоумножитель.

Механизм образования сигнала

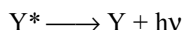
В каждом конкретном случае механизм образования сигнала в ПФД является весьма сложным и не всегда отдельные стадии этого механизма имеют экспериментальное подтверждение. Наиболее общие стадии процессов, определяющих сигнал ПФД, заключается в следующем. В пламени в результате воздействия излучения ($h\nu$), или возбужденных атомов (A^*), или группы возбужденных атомов (AG^*) на молекулы анализируемых веществ, содержащих гетероатомы (ABY), образуются возбужденные атомы или группы:



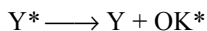
При высокой энергии возбуждения существенно увеличивается вероятность ионизации:



Этот процесс в ПФД нежелателен. При низкой энергии возбуждения увеличивается вероятность преобразования избыточной энергии возбуждения частицы в характерное излучение:



Однако в присутствии органических компонентов (ОК) возможна передача энергии возбуждения, не сопровождающаяся излучением, в результате чего выход излучения и, соответственно, чувствительности может существенно понизиться, т.е. может наблюдаться так называемый эффект гашения (затухания) сигнала:



Различные гетероатомы в пламени образуют группы, характеризующиеся излучением специальной длины волны. Суммарное излучение пламени проходит через светофильтр, который поглощает фоновое излучение и пропускает излучение характеристической длиной волны, после чего поступает на фотоэлектроумножитель, на выходе которого регистрируется электрический ток.

Особенностью газового питания ПФД является использование так называемого "восстановительного" пламени, обогащенного водородом.

3.3.8 Детектор по теплопроводности (ДТП)

ДТП или катарометр является универсальным неdestructирующим детектором. В основу работы ДТП положен процесс передачи тепла от нагретого чувствительного элемента к более холодному корпусу детектора за счет теплопроводности газового потока (рис. 17). С изменением состава газового потока меняется его теплопроводность, т.е. количество тепла, отводимое от чувствительного элемента. Это, в свою очередь, приводит к изменению температуры, а, следовательно, и электрического сопротивления чувствительного элемента. В измерительной схеме ДТП (рис. 18) возникает сигнал в виде разности потенциалов (напряжения), величина которого пропорциональна концентрации анализируемого вещества в газе-носителе.

Особенностью ДТП, по сравнению с другими детекторами, является необходимость продувки его двумя потоками газа-носителя — по рабочей и сравнительной линии, в каждой из которых помещается два чувствительных элемента. Обе линии равноценны и могут быть как рабочей, так и сравнительной. В сравнительную линию ДТП подается, как правило, "чистый" газ-носитель из сравнительной колонки, в рабочую линию подается поток газа-носителя из рабочей (аналитической) колонки. Таким образом, в ДТП производится сравнение теплопроводностей "чистого" газа-носителя и газа-носителя, содержащего разделенные в рабочей колонке анализируемые вещества.

В качестве датчиков применяются платиновые, вольфрамовые или позолоченные вольфрамовые волокна в виде спиралей, помещенных в каналы металлического блока, через которые проходит газ-носитель. Другой тип катарометра снабжен термисторным датчиком, выполненным в виде шарика. Волокна, служащие в качестве датчиков, обычно являются составной частью моста Уитстона, и через них либо пропускают по-

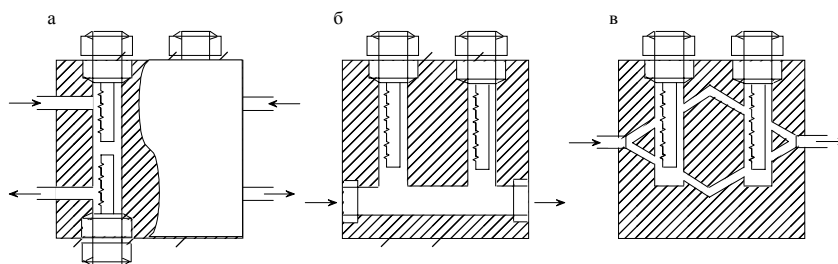


Рисунок 17 – Типы ячеек детектора по теплопроводности:

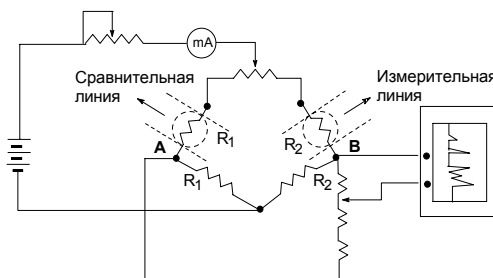
а – проточные; б – диффузионные; в – полудиффузионные
Стрелками показано направление потока газа-носителя

Рисунок 18 – Схема включения двухплечевого катарометра в измерительный мост

стоянный электрический ток с последующим измерением изменения их сопротивления по мере изменения температуры,

либо поддерживают постоянной их температуру и измеряют соответствующее изменение электрического тока. Применяется также катарометр с попеременной импульсной обдувкой датчика чистым газом-носителем и газом-носителем в смеси с анализируемым веществом.

Когда температура и, следовательно, сопротивление чувствительных элементов R_1 и R_2 одинаковы, мост сбалансирован и на регистрирующий прибор подается нулевой сигнал. При прохождении через измерительную ячейку определяемого компонента сопротивление чувствительного элемента R_2 изменяется, а значение сопротивления R_1 остается первичным. Схема моста при этом выходит из равновесия, и между точками А и В возникает разность потенциалов, которая преобразуется в сигнал, непрерывно регистрируемый потенциометром.



Механизм образования сигнала

В отсутствии тока температура нити чувствительного элемента равна температуре корпуса детектора $T_n = T_d$. При прохождении через чувствительный элемент электрического тока выделяется некоторое количество тепла. Часть этого тепла за счет различных процессов отводится от нити, а оставшаяся часть идет на ее разогрев. При постоянстве состава газового потока количество тепла, отводимое от нити, постоянно, и в детекторе устанавливается равновесие, при котором нить принимает какую-то постоянную температуру, причем $T_n > T_d$.

В идеальном ДТП тепло от нити отводится только за счет теплопроводности газового потока. К моменту попадания в камеру детектора газовый поток имеет температуру T_d . Молекулы газа получают от более горячей нити избыточное тепло, которое они передают за счет столкновений другими молекулами, те в свою очередь третьим, и так до тех пор, когда все тепло, полученное о нити, перейдет к корпусу детектора. При этом все молекулы газового потока, участвующие в процессе теплопередачи, возвращаются в исходное состояние, т.е. газ выходит из камеры

детектора с той же температурой T_d , что и входит в нее, и скорость газового потока не влияет на температуру нити.

При поступлении в детектор анализируемого вещества, теплопроводность которого отличается от теплопроводности газа-носителя, количество тепла, отводимое от нити, изменяется, что приводит к изменению температуры нити. Если теплопроводность анализируемого вещества больше теплопроводности газа-носителя, увеличивается отвод тепла и температура нити уменьшается, и наоборот, если теплопроводность анализируемого вещества меньше, то температура нити повышается.

Влияние режима работы ДТП на его основные характеристики

При работе с детектором по теплопроводности хроматографист задает и контролирует следующие параметры режима работы детектора:

- природу газа-носителя;
- расход газа-носителя;
- температуру детектора;
- ток моста детектора.

Чувствительность детектора пропорциональна относительной разности теплопроводностей газа-носителя и анализируемых веществ. Большинство газов и паров анализируемых веществ имеют низкую теплопроводность (табл. 11).

Таблица 11 – Теплопроводность некоторых газов и анализируемых веществ при 100°C

Соединения	Теплопроводность	
	$\mu \cdot 10^{-3}$, Вт/мК	%
Газ-носитель:		
гелий	174,2	100
водород	223,6	128
азот	31,4	18,0
аргон	21,8	12,5
этанол	22,2	12,7
гексан	21,0	12,0
бензол	17,2	9,9
ацетон	16,7	9,6
сероводород	15,5	9,0

Лишь водород и гелий имеют относительно высокую теплопроводность, поэтому использование этих газов качестве газа-носителя обеспечивает наилучшие характеристики ДТП: наибольшую чувстви-

тельность и линейность детектора, меньшую зависимость чувствительности от природы анализируемого вещества. На практике водород из-за взрывоопасности применяется значительно реже инертного гелия. Однако гелий довольно дефицитен, поэтому в качестве газа-носителя могут применяться и такие газы, как азот, аргон, двуокись углерода. При этом следует учитывать, что при использовании этих газов достигается гораздо меньшая чувствительность ДТП, возможно появление отрицательных пиков и искажение формы пика, делающее проведение количественного анализа вообще невозможным.

Величина расхода газа-носителя для хорошо сконструированных детекторов практически не оказывает влияния на чувствительность детектора.

При постоянстве всех прочих условий анализа изменение температуры детектора мало сказывается на величине чувствительности ДТП.

Чувствительность ДТП в значительной мере определяется величиной тока детектора, причем зависимость чувствительности от тока близка к кубической. На практике двукратное увеличение тока детектора увеличивает его чувствительность в 8–10 раз. Однако чрезмерное увеличение тока детектора для получения высокой чувствительности недопустимо, т.к. с превышением некоторой температуры нить быстро перегорит. Предельная величина тока детектора, которую нельзя превышать, определяется природой газа-носителя и температурой детектора (табл. 12).

Таблица 12 – Максимально допустимый ток ДТП (мА) в зависимости от условий его работы

Газ-носитель	Температура ДТП, °C			
	50	150	300	400
Гелий	350	250	120	100
Азот	200	150	90	80

Чем больше теплопроводность газа-носителя, тем больше он охлаждает нить, и тем больше ток детектора можно задавать, не рискуя перегреть нить. Чем меньше температура детектора, тем больший ток можно задавать.

Так как с повышением температуры детектора предельное значение тока снижается, это приводит к уменьшению чувствительности ДТП. Наибольшая чувствительность ДТП достигается при отсутствии подогрева его корпуса и задании предельного тока.

Таким образом, использование газа-носителя высокой теплопроводности (гелия) позволяет реализовать наибольшую чувствительность

ДТП за счет большей разности теплопроводностей, а также за счет возможности задания большого тока детектора.

Уровень шума ДТП определяется в основном током детектора. С увеличением тока шум возрастает. Причем при токе, близком к предельному, уровень шума возрастает непропорционально сильно, что приводит к нежелательному увеличению предела детектирования.

Уровень шума ДТП резко возрастает при загрязнении детектора. Для предохранения детектора от загрязнений его температура должна быть равна или выше температуры колонки.

3.3.9 Стандартные режимы работы хроматографа с некоторыми детекторами

Для оценки состояния хроматографа с ДИП и ДТП используют стальные колонки длиной 1 м, заполненные силохромом С-80 зернением 0,2–0,25 мм.

Для оценки состояния хроматографа с ДПР, ПФД и ДТИ используют колонки стеклянные длиной 1 м с хроматоном N-AW-HMDS, пропитанным 3–5% силикона SE-30.

Колонки предварительно кондиционируются при температуре 200–250°C.

Режимы работ

с ДТП: Расход гелия 30 см³/мин по каждой линии. Температура детектора 100°C; колонок 70°C; ток моста 220 мА.

с ДИП: Расходы газов: азота 30 см³/мин; водорода 30 см³/мин; воздуха 300 см³/мин. Температура детектора 120°C; крана-дозатора 100°C; колонки 100°C.

с ДТИ: Для анализа фосфорсодержащих веществ оценка производится при расходах газов: азота 30 см³/мин; водорода 15–16 см³/мин; воздуха 160–180 см³/мин. Температура детектора 320°C.

Для анализа азотсодержащих соединений оценка производится при расходах газов: азота 33–35 см³/мин; водорода 14–15 см³/мин; воздуха 160–180 см³/мин. Температура детектора 390°C. Температура колонки 190°C, испарителя 230°C.

с ПФД: Расходы газов: азота 45 см³/мин; водорода 65 см³/мин; воздуха 110–115 см³/мин. Температура детектора 200°C, испарителя 240°C, колонки 190°C.

3.4 СПЕКТРАЛЬНЫЕ ДЕТЕКТОРНЫЕ СИСТЕМЫ

3.4.1 Инфракрасные детекторы (ИКД)

Инфракрасная спектроскопия широко применяется в химическом анализе и в сочетании с газовой хроматографией. Методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье (ИКПФ) проводят анализ элюируемых соединений с высокой скоростью и чувствительностью. Полученный при этом ИК-спектр поглощения можно рассматривать как индивидуальную характеристику соединения и использовать для его идентификации.

3.4.2 Масс-селективный детектор (МСД)

Уже давно масс-спектрометр рассматривается как отличный детектор для газовой хроматографии. Полученные с его помощью спектры, подобно ИКД, дают такую информацию о качественном составе пробы, какую не могут дать иные газохроматографические детекторы. Различие между МСД и ИКД состоит в том, что первый обладает большей чувствительностью по сравнению с ИКД, кроме того, он разрушает пробу, дает информацию о массе, а не о функциональных группах и различает скорее гомологи, чем изомеры.

При бомбардировке электронами молекул в газообразном состоянии связи в молекулах разрываются и образуют ионы. Вид и количество образующихся фрагментов характерны для данной молекулы. При наложении магнитного поля положительно заряженные частицы ускоряются и движутся по изогнутым кривым, радиус кривизны которых пропорционален корню квадратному из массы иона. При некотором постоянном магнитном поле поток ионов, содержащий ионы с идентичным масса/заряд, попадает на коллектор. Здесь при разряде ионов возникает ток, пропорциональный относительному количеству ионов с соответствующей массой. Изменением магнитного поля постепенно переводят на коллектор потоки ионов с другим соотношением масса/заряд. Ток коллектора записывается и дает масс-спектрограмму.

В квадрупольном масс-спектрометре разделение по массе достигается иным образом. Между четырьмя постоянными магнитами образуется высокочастотное электрическое поле. Когда пучок ионов попадает в это поле, только ионы с определенным отношением масса/заряд имеют стабильную траекторию и попадают на детектор (коллектор). Детектирование пучков с различным отношением масса/заряд проводят варьированием электрического поля.

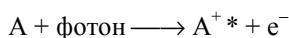
3.4.3 Атомно-эмиссионный детектор (АЭД)

В течение многих лет исследователи пытались использовать атомно-эмиссионную спектроскопию в газовой хроматографии. Ее применение дает возможность определять элементы непосредственно в элюате, поступающем из колонки.

Возбуждающие атомы излучают свет с характерной длиной волны. В атомно-эмиссионном детекторе проба переводится в атомарное состояние, а образовавшиеся атомы переходят в возбужденное состояние. Для этого необходима значительная энергия, которая имеется в плазме, индуцированной микроволновым излучением. Переход возбужденных атомов в состояние с более низкой энергией сопровождается излучением света. Длина волны возникающего излучения измеряется спектрофотометром.



или



где звездочкой отмечены на схеме частицы, находящиеся в возбужденном состоянии.

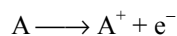
3.5 ДРУГИЕ ДЕТЕКТОРНЫЕ СИСТЕМЫ

Описанные в этой части детекторы получили меньшее распространение по сравнению с описанными выше, тем не менее, они также весьма информативны.

3.5.1 Гелий-ионизационный детектор (ГИД)

Гелий-ионизационный детектор был разработан в 1950-е годы. Принцип действия ГИД основан на том, что ионизация инертного газа увеличивается, если при постоянном уровне облучения в него добавляют посторонний газ. Точный механизм этого явления не вполне ясен, хотя за последние годы в этом направлении достигнут некоторый прогресс.

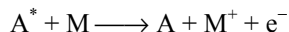
Механизм процесса основан, вероятнее всего, на переносе энергии от метастабильного гелия к другим атомам и молекулам. Сначала образуются заряды с постоянной скоростью:



Освободившиеся электроны малых энергий разгоняются сильным полем и при соударениях с атомами газа-носителя сообщают им энергию, переводящую их в возбужденное (метастабильное) состояние:



Полный сбор электронов и ионов, возникающих в результате первичной ионизации газа-носителя, создает фоновый ток детектора. Вероятность перехода возбужденных атомов Ag или Ne в первоначальное энергетическое состояние значительно увеличивается при введении в детектор веществ, имеющих близкие или меньшие потенциалы ионизации (энергию отрыва электрона), чем энергия возбужденного состояния:



Образующиеся в результате реакции вторичной ионизации заряды создают дополнительный ток, являющийся сигналом детектора на введенное количество вещества.

Так как энергия возбуждения метастабильного гелия (19,6 эВ) и аргона (11,6 эВ) больше, чем потенциал ионизации всех других частиц, за исключением неона (21 эВ), поэтому другие компоненты могут ионизироваться.

ГИД используется главным образом в том случае, если необходимо обнаружить следы посторонних газов. ГИД является универсальным детектором.

3.5.2 Редокс-хемилюминесцентный детектор (РХД)

Этот вид детекторов был разработан в конце 1970-х годов для количественного анализа азота, водорода и соединений серы в воде или воздухе. Обычно для определения используется реакция азота с озоном.

С помощью РХД можно анализировать следующие классы соединений: спирты, альдегиды, кетоны, фенолы, олефины, ароматические углеводороды, амины, тиолы, сульфиды и фосфонаты. РХД хорошо сочетается с ДИП, так как многие соединения, не дающие сигнала в детекторе ДИП, реагируют как восстановители и тем самым способны регистрироваться детектором РХД.

3.6 СИСТЕМА ТЕРМОСТАТИРОВАНИЯ

Система термостатирования необходима для поддержания оптимального температурного режима хроматографических колонок, детекторов, дозирующих устройств. Наиболее жесткие требования предъявляются к системе термостатирования хроматографических колонок, поскольку из многих факторов, влияющих на разделение, температурный особенно велик. Температура детекторов и дозирующих устройств должна быть, как правило, на 30–50°C выше температуры колонок.

В настоящее время большинство отечественных и зарубежных хроматографов снабжаются воздушными термостатами. Он представляет собой камеру с двойными стенками, пространство между которыми заполнено теплоизоляционным материалом. Вентилятор создает интенсивный поток воздуха, проходящий через секции с электрическими нагревателями и прогревающий внутреннюю камеру термостата и термостатируемые элементы — колонки, детектор (рис. 19). Температурный режим термостата устанавливается регулированием мощности нагревателей или по принципу двухпозиционного регулирования, или по типу пропорционального регулирования.

Роль датчика температуры выполняет термометр сопротивления (ТСР), представляющий собой калиброванное сопротивление из тонкой платиновой проволоки.

Термостаты могут работать как в изотермическом режиме, так и в режиме программирования.

При температуре термостата ниже заданной выделяемая мощность нагревателя имеет максимальное значение и вызывает быстрый нагрев термостата. Когда температура термостата достигает значения на несколько градусов меньше заданной температуры, начинается плавное уменьшение

мощности нагревателя, пока не будет достигнуто равновесие, при котором выделяемая нагревателем мощность лишь компенсирует тепловые потери термостата во внешнюю среду, не вызывая дальнейшего увеличения температуры.

При работе термостата в программном режиме изменение температуры коло-

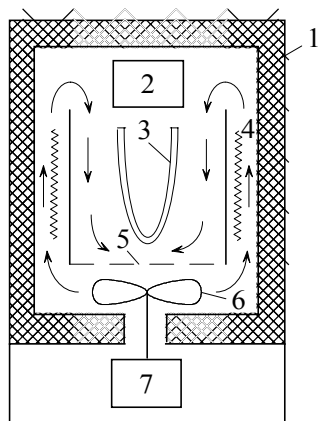


Рисунок 19 – Схема воздушного термостата:

1 – теплоизоляция; 2 – детектор; 3 – колонки; 4 – нагреватель; 5 – защитная сетка; 6 – вентилятор; 7 – электродвигатель.

нок задается программатором, работающим совместно с терморегулятором. Чаще всего используется линейный вариант (постоянная скорость повышения температуры) или линейно-ступенчатый режим, при котором участки повышения температуры чередуются с изотермическими ступенями.

3.7 СИСТЕМА ОБРАБОТКИ СИГНАЛОВ ДЕТЕКТОРОВ

Сигналы детекторов по теплопроводности (ДТП) и по плотности записываются непосредственно с помощью стандартных автоматических компенсационных потенциометров общего назначения со шкалой 1–10 мВ и временем пробега шкалы пером 0,5–0,2 с, например «КСП-4». Для согласования величины сигнала со шкалой потенциометра используются прецизионные делители, позволяющие направлять на регистрацию лишь часть сигнала детектора.

Для регистрации сигнала ионизационных детекторов (ДИП, ПФД и др.) необходимо использовать усилители, преобразующие весьма малый ток детекторов в пропорциональное напряжение, соответствующее шкале применяемого автоматического потенциометра.

В хроматографах, обеспечивающих одновременную и независимую работу двух детекторов, используются два индивидуальных потенциометра или двухканальные, двухперьевые потенциометры, записывающие сигналы двух детекторов на одной ленте.

Для измерения и регистрации сигнала используются электронные интеграторы и микропроцессорные системы обработки хроматографической информации.

В настоящее время почти все хроматографы, имеют встроенные интеграторы или ЭВМ с банком данных. Широкое применение ЭВМ в хроматографии позволило поднять метод анализа на новый уровень, осуществить полную автоматизацию всех этапов.

Глава IV. КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

При выполнении качественного анализа перед аналитиком могут стоять следующие задачи:

Анализ смеси, состав которой полностью известен. Для решения поставленной задачи необходимо записать хроматограмму, получить индивидуальные сигналы и установить, какому конкретному соединению принадлежит каждый пик на хроматограмме. Такая задача чаще всего встречается в условиях производства.

Провести анализ смеси известного происхождения. Для этого необходимо собрать как можно больше сведений по предполагаемому составу смеси, это поможет успешно сделать анализ и более быстро.

Подтвердить наличие в образце какого-либо соединения.

Провести анализ смеси неизвестного происхождения. Решение задач этого типа представляет большую сложность, и наряду с хроматографическими приемами идентификации используются дополнительные методы.

Определить сортность продуктов методом сравнения хроматограмм («техника отпечатков пальцев»).

Успешное выполнение качественного газохроматографического анализа требует знаний о природе хроматографического удерживания, знаний связи удерживания со структурой молекул анализируемых компонентов и свойствами сорбентов.

Исходными экспериментальными данными, с помощью которых выполняется качественный газохроматографический анализ, являются элюционные характеристики. Их мы рассматривали в главе 1.5.

4.1 КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭТАЛОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

При выполнении задачи в первую очередь необходимо записать хроматограмму исходной смеси, добившись достаточного разделения всех компонентов. Необходимо иметь хроматографически чистые индивидуальные соединения, входящие в эту смесь. Вспомним, что каждое индивидуальное вещество в данных конкретных условиях хроматографирования имеет свои однозначные параметры удерживания (t_R , I_R , V_R).

Если хроматографировать отдельно каждый эталонный образец, в тех же условиях, что и смесь, а затем сопоставить параметры удержива-

ния, то по хроматограмме смеси можно установить, какому веществу соответствует каждый пик – **метод сравнения**. Когда хроматограмма исходной смеси густо «заселена» или времена двух рядом стоящих пиков близки, возможны затруднения в однозначной идентификации. В этом случае лучше воспользоваться другим приемом – **методом добавки**. В анализируемую смесь добавить чистый эталон, записать новую хроматограмму и сравнить полученную с начальной (без добавки). Сравнить нужно как времена удерживания, так и ширину на полувысоте. Если неизвестный пик принадлежит предполагаемому добавленному известному компоненту, то высота пика исследуемого вещества должна возрасти, а форма, точнее ширина на полувысоте, должна остаться неизменной. Неизменным должно оставаться и время удерживания.

Методом добавки лучше пользоваться и тогда, когда компоненты имеют большое время удерживания. В этом случае воспроизводимость параметров удерживания падает и сравнение времен удерживания не приводит к убедительным результатам. Кроме того, иногда индивидуальное вещество имеет одно время удерживания, а когда выходит на хроматограмме рядом с другими соединениями (в смеси) изменяет свое время удерживания. Имеет место эффект «модификации фазы».

Поэтому чаще всего анализ приходится проводить и методом сравнения и методом добавки, дополняя один другим. Кроме того, результаты, полученные на одной колонке необходимо подтвердить результатами, полученными на колонке с другой НЖФ (отличающейся полярностью).

4.2 ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ СМЕСИ ПО ГРАФИКАМ УДЕРЖИВАНИЯ

Для решения задач качественного газохроматографического анализа, наряду с методом добавки чистых веществ и сравнения параметров удерживания (метод внешнего стандарта), существуют другие пути идентификации, например, идентификация по **графикам удерживания**.

Для построения графиков лучше пользоваться относительными объемами удерживания, так как они в меньшей степени зависят от рабочих условий.

Первоначально было установлено, что логарифмы объемов удерживания эфиров жирных кислот линейно возрастают с увеличением молекулярного веса или числом атомов углерода. Позднее это было подтверждено на примере других гомологических рядов.

$$\lg V'_R = a + b \cdot n, \quad (58)$$

где n – число атомов углерода соединений гомологического ряда; a и b – коэффициенты, зависящие от условий анализа (природы НЖФ и твердого носителя, температуры колонки и т.д.) и функциональной группы гомологического ряда (рис. 20).

Линейная зависимость существует также между логарифмом исправленного объема удерживания (индексом удерживания) членов гомологического ряда и их температурой кипения (или $T_{\text{кип}}/T_K$).

$$\lg V'_R = a + b \cdot (T_{\text{кип}}), \quad (59)$$

$$\lg V'_R = a + b \cdot (T_{\text{кип}}/T_K), \quad (60)$$

где $T_{\text{кип}}$ – температура кипения анализируемых веществ; T_K – температура колонки.

Однако наблюдаются отклонения от линейной зависимости для низших членов гомологических рядов ($n < 5$) высокополярных веществ.

В газодсорбционной хроматографии на неспецифических адсорбентах для идентификации можно воспользоваться линейной зависимостью логарифмов объемов удерживания от электронной поляризуемости молекул.

Перечисленные выше зависимости особенно важны, когда предполагаемые компоненты неизвестной смеси не могут быть получены в чистом виде, чтобы воспользоваться методами «сравнения» или «добавки».

Таким образом, если для нескольких представителей одного гомологического ряда построить график зависимости логарифма объема удерживания от числа углеродных атомов или от $T_{\text{кип}}$ разделяемых веществ, то получим приблизительно прямую линию.

Представляя затем на полученном графике логарифмы объемов удерживания анализируемых неизвестных соединений, можно найти либо их температуру кипения, либо число атомов углерода.

Однако присутствие в анализируемой смеси веществ, относящихся

к другим гомологическим рядам, может привести к тому, что определенный объем удерживания V'_{R_x} соответствует нескольким

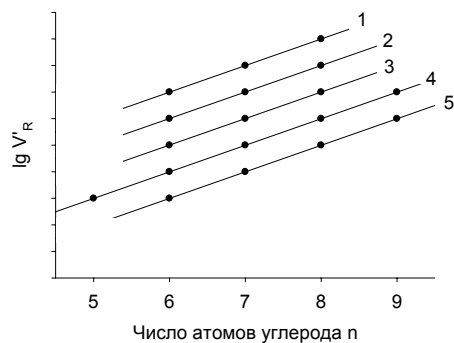
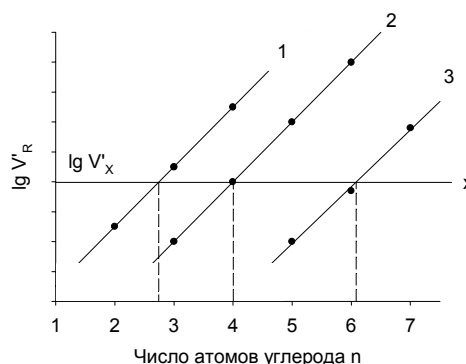


Рисунок 20 – График зависимости логарифма приведенного объема удерживания от числа атомов углерода для различных гомологических рядов:

1 – углеводороды; 2 – ароматические углеводороды; 3 – спирты; 4 – кетоны; 5 – алкалоиды

Рисунок 21 – Зависимость логарифма объема удерживания (x) от числа атомов углерода для веществ, относящихся к различным гомологическим рядам.

1, 2, 3 – линии, объединяющие значения логарифмов объема удерживания компонентов одного гомологического ряда; x – логарифм объема удерживания компонента X



соединениям (рис. 21).

Однозначная идентификация в этих случаях возможна, если применить вторую НЖФ, отличающуюся по полярности или по другим свойствам. Так, например, имея несколько чистых гексенов и, построив указанную выше зависимость ($V'_{отн}$ от $T_{кип}$), можно идентифицировать все изомеры гексена, находящиеся в сложных смесях продуктов димеризации пропилена.

Для уменьшения возможной ошибки аналогичные зависимости были найдены на двух неподвижных фазах различной полярности — эфира триэтиленгликоля и n -масляной кислоты (ТЭГИМ) и β, β' -оксидипропионитрила (20ДП).

Температуры кипения веществ, найденные по этим графикам, не отличались от справочных значений более чем на $0,2-0,3^\circ\text{C}$ (рис. 22).

В том случае, если анализируемая смесь имеет сложный состав и предполагается, что в ней присутствуют соединения различных классов, то целесообразно провести сначала групповую идентификацию, т.е. разобраться, к какому гомологическому ряду относится та или иная группа соединений.

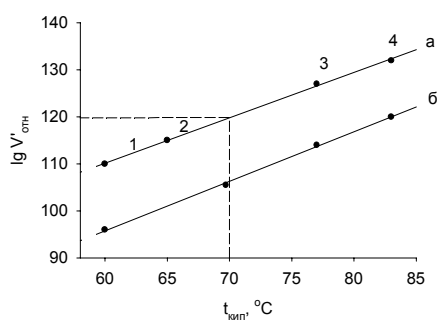
Для этого по эталонным соединениям предполагаемых гомологических рядов строят графики зависимости логарифмов объемов удержи-

Рисунок 22 – Зависимость логарифма относительного объема удерживания от температуры кипения на двух неподвижных жидких фазах для изомеров гексена:

а) фаза – эфир триэтиленгликоля и n -масляной кислоты (ТЭГИМ);

б) фаза – β, β' -оксидипропионитрила (20ДП);

1 – 2,3-диметилбутен-1; 2 – 2,2-диметилбутен-1; 3 – 2-метилпентен-2; 4 – 2,3-диметилбутен-2;



вания на одной НЖФ от логарифмов объемов удерживания этих же соединений на НЖФ другой полярности ($\lg V'_{R1}$ от $\lg V'_{R2}$). При этом получается ряд параллельных прямых, каждая из которых относится к одному классу органических соединений (рис. 23).

При нанесении на график логарифмов объемов удерживания анализируемых веществ, измеренных на этих НЖФ в тех же условиях, можно сразу определить принадлежность того или иного соединения к определенному гомологическому ряду (точка пересечения 2-х координат ляжет на прямую того гомологического ряда, к которому относится это соединение).

Для успешного применения этого метода должны быть известны объемы удерживания, по меньшей мере, 3-х соединений из данного гомологического ряда.

В заключение можно отметить, что методы идентификации по графикам удерживания привлекают исследователей своей простотой, надежностью результатов, но не всегда приводят к цели. Для успешного решения сложных задач качественного газохроматографического анализа для групповой идентификации можно использовать ряд других методов:

1. Реакционная газовая хроматография. В этом методе наряду с газохроматографическим разделением, используются химические реакции, которые приводят к образованию соединений, отличающихся по летучести и параметрам удерживания от исходных соединений.
2. Анализ на селективных НЖФ.
3. Анализ на приборах с селективными детекторами, имеющими повышенную чувствительность к соединениям определенных классов.

Невозможность однозначного определения хроматографическим методом различных функциональных групп вызывает необходимость привлечения к хроматографическим методам идентификации ряд других инструментальных методов (ИК-, масс-спектрометрию, и т.д.).

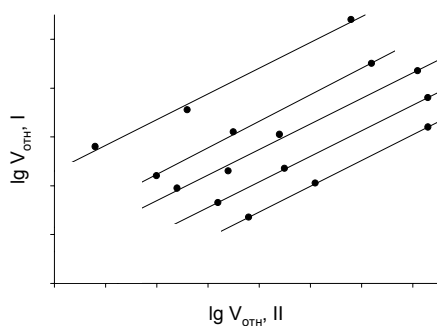


Рисунок 23 — Зависимость между логарифмами объемов удерживания на различных неподвижных фазах.

$\lg V_{отн, I}$ — логарифмы относительных объемов удерживания на неподвижной фазе I;

$\lg V_{отн, II}$ — логарифмы относительных объемов удерживания на неподвижной фазе II;

Прямые принадлежат различным гомологическим рядам.

Глава V. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

5.1 РУЧНЫЕ СПОСОБЫ ОБРАБОТКИ ХРОМАТОГРАММ

Методы измерения параметров пиков можно разбить на две группы: ручные методы и автоматические. Ручные методы используются после того, как получена обычная запись результата разделения — хроматограмма. Ручные методы отличаются простотой. При обработке хроматограммы вручную основную роль играет оператор. При этом используется обычный чертежный инструмент. Кроме того, применяют измерительную лупу и иногда планиметр.

При автоматической обработке хроматограмм, интегрирование проводится одновременно с записью хроматограммы. Автоматические методы характеризуются тем, что оператор играет второстепенную роль (считывает показания интегратора, нажимает кнопку начала измерения и т.п.). Здесь исключаются ошибки оператора и погрешности самописца. Однако использование электронных интеграторов предъявляют более высокие требования к квалификации оператора, поскольку необходимо настраивать интегратор для обработки определенной хроматограммы. Автоматическая обработка результатов разделения особенно удобна при проведении рутинных анализов. При проведении разовых анализов более целесообразна ручная обработка хроматограмм.

5.2 ИЗМЕРЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПАРАМЕТРОВ ХОРОШО РАЗДЕЛЕННЫХ ПИКОВ

Количественный газохроматографический анализ основан на зависимости между площадью S (или высотой h) пика и количеством определяемого компонента в пробе.

Под **площадью пика** понимается площадь, ограниченная контуром пика и его основанием — CD отрезком, соединяющим начало и конец пика (рис. 24). Площадь пика измеряется в $мм^2$, $A \cdot c$ или $B \cdot c$.

Высота пика (h) — расстояние от вершины пика до его основания, измеренное в направлении параллельной оси сигналов детектора (рис. 25), h — измеряется в мм:

- а — нулевая параллельная оси времени, т.е. дрейф отсутствует (рис. 25, а);
- б — измерение высоты при дрейфе нулевой (рис. 25, б).

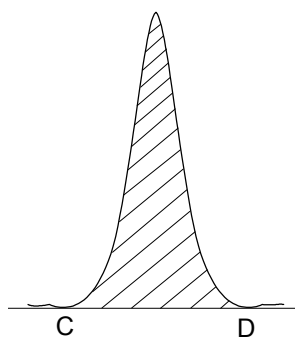


Рисунок 24 – Определение площади пика

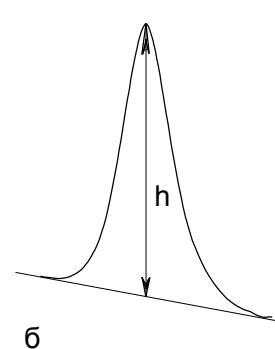
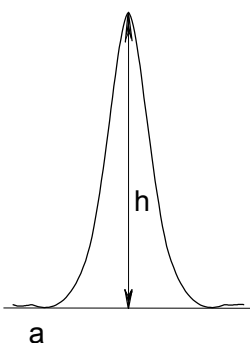


Рисунок 25 – Определение высоты пика:

- а) при отсутствии дрейфа нулевой линии;
б) при дрейфе нулевой линии.

Площадь и высота пика могут измеряться как вручную, так и автоматически. При ручных способах измерения площади пика используют вспомогательный параметр — ширина пика (рис. 26).

Ширина пика — проекция отрезка прямой, параллельной основанию пика, ограниченного точками пересечения с ветвями пика, на ось времени. Ширина пика может измеряться на разных уровнях (сечениях) высоты пика. Ширина пика измеряется в мм; сек. Наиболее просто вручную измеряются и рассчитываются параметры так называемых гауссовых пиков (рис. 27). Контур этих пиков описывается уравнением:

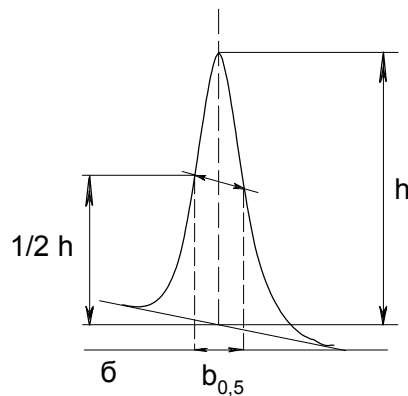
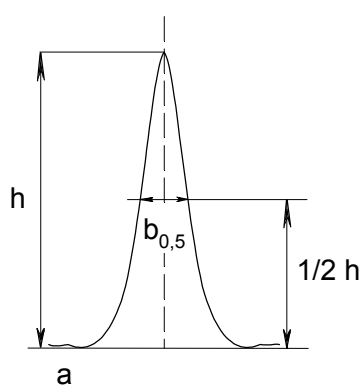


Рисунок 26 – Определение ширины пика:

- а) при отсутствии дрейфа нулевой линии; б) при дрейфе нулевой линии.

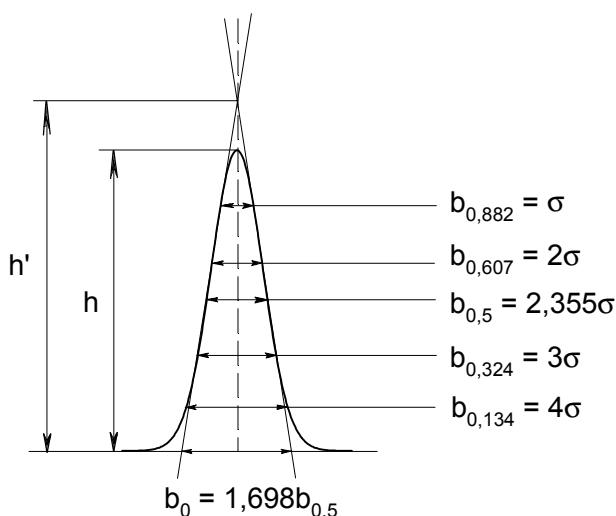


Рисунок 27 – Свойства гауссовского пика:

σ – стандартное отклонение; h – высота пика; h' – высота описанного треугольника

$$y = h \cdot \exp^{-x^2/2\sigma^2} = S \cdot \frac{\exp\left[-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{x}{\sigma}\right)^2\right]}{\sigma} \cdot \sqrt{2\pi} \quad (61)$$

где x , y – координаты точки контура пика; h и S – высота и площадь пика, отвечающая максимальной концентрации компонента в зоне; σ – стандартное отклонение, которое отвечает ширине пика на высоте $0,882 h$.

Стандартное отклонение может быть определено также из соотношений, справедливых для гауссовских пиков:

$$2\sigma = b_{0,607} \quad 2,36\sigma = b_{0,500} \quad 3\sigma = b_{0,324} \quad 4\sigma = b_{0,134}$$

Расчет площади пика как площади, ограниченной гауссовой кривой (для симметричных пиков), проводят по формуле, полученной интегрированием гауссовой функции распределения ошибок:

$$S = \sqrt{2\pi} \cdot \sigma \cdot h = 2,507 \cdot \sigma \cdot h = 1,064 \cdot h \cdot b_{0,5} \quad (62)$$

где S – площадь пика; h – его высота; σ – стандартное отклонение, равное ширине пика на высоте $b_{0,882}$.

Точность измерения площади пика этим методом определяется точностью измерения отрезков на хроматограмме (h и $b_{0,882}$), а, поскольку

ку, высота пика обычно много больше ширины пика, то точность измерения площади пика в значительной степени определяется точностью измерения ширины пика. Поэтому при измерении ширины узких пиков (меньше 10 мм) желательно пользоваться измерительной лупой и учитывать толщину линии, записываемой пером регистратора.

Кроме того, точность измерения ширины пиков можно повысить, записывая хроматограммы при больших скоростях протяжки диаграммной ленты самописца.

Обработка хроматограмм с асимметрическими пиками, как правило, проводится с меньшей точностью.

Асимметричность пика анализируемого соединения может быть вызвана двумя причинами:

1. Перегрузкой колонки анализируемым веществом.
2. Наличием остаточной адсорбционной активности твердого носителя, используемого для приготовления сорбента.

Форма пиков при этом различна. Перегрузка колонки приводит к образованию размытого фронта (рис. 28, а). Остаточная адсорбционная активность приводит к образованию хвоста (рис. 28, б).

Устранение асимметричности первого рода достигается при уменьшении дозы. В то время как устранение асимметричности второго рода — более трудная задача. Для численного выражения асимметричности предложено использовать коэффициент асимметричности (рис. 29):

$$K_{as} = \frac{S_A}{S_B} \quad K_{as0,1} = \frac{c}{d} \quad K_{as} = \frac{a}{b} \quad (63)$$

где S_A и S_B — площади между осевой линией пика и задним его фронтом, и передним его фронтом соответственно; a и b — расстояния между осевой линией пика и задним его фронтом и передним его фронтом на полувысоте соответственно; c и d — то же самое на 0,1 высоты пика.

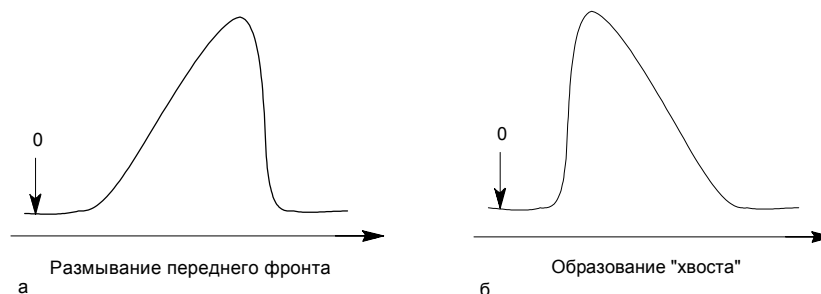


Рисунок 28 — Асимметричность пика, вызванная:

а — перегрузкой колонки; б — остаточной адсорбционной активностью

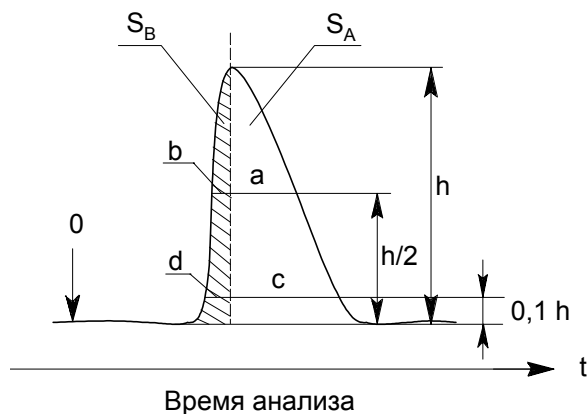


Рисунок 29 – К определению коэффициента симметричности хроматографического пика

Для симметричного пика $K_{as} = 1$. В случае остаточной адсорбции $K_{as} > 1$, при «перегрузочных» пиках $K_{as} < 1$. Считается допустимым работать на колонке, имеющей K_{as} для всех компонентов анализируемой смеси в пределах 0,7 – 1,5. Искажение формы пика при адсорбции («хвостование») зависит и от природы анализируемых соединений. Менее всего адсорбируются насыщенные углеводороды, наиболее сильно — высокополярные соединения. Аналитическая колонка может оказаться пригодной для анализа соединений одного класса и совершенно не пригодной для соединений другого класса. Ее следует охарактеризовать и по этому признаку.

5.3 ИЗМЕРЕНИЕ ПЛОЩАДЕЙ ГАУССОВЫХ ПИКОВ

Хроматографический пик во многих случаях достаточно хорошо описывается уравнением Гаусса. Соответствие записанного пика этому уравнению определяется измерением ширины пика на различных уровнях. При этом должна соблюдаться зависимость между шириной пика — b_r , стандартным отклонением — σ и уровнем — r :

$$b_r = 2\sigma \cdot \left(2 \cdot \lg \frac{1}{r} \right)^{1/2} \quad (64)$$

На практике для установления формы пика используется соотношение между шириной пика на нулевой линии (отрезок отсекаемый касательными, проведенными к сторонам пика в точках перегиба, на основании пика) и на половине высоты.

Если $b_0 : b_{0,5} = 1,67-1,73$ тогда пик считается гауссовым (критерий Эттре).

5.3.1 Методы триангуляции

Пик рассматривают как треугольник и площадь его рассчитывают как площадь треугольника. Известны три метода триангуляции (*triangle – triangle*). Эти методы приближенные, поскольку площадь пика аппроксимируется площадью одного из трех треугольников.

а). В первом методе триангуляции за площадь пика принимается площадь *описанного треугольника*, образованного касательными, проведенными к сторонам пика в точках перегиба, и отрезком, отсекаемым касательными на основании пика (рис. 30, а).

Площадь описанного треугольника рассчитывается обычно по формуле:

$$S = \frac{1}{2} \cdot h' \cdot b_0 \quad (65)$$

где h' – высота описанного треугольника; b_0 – ширина пика на нулевой линии.

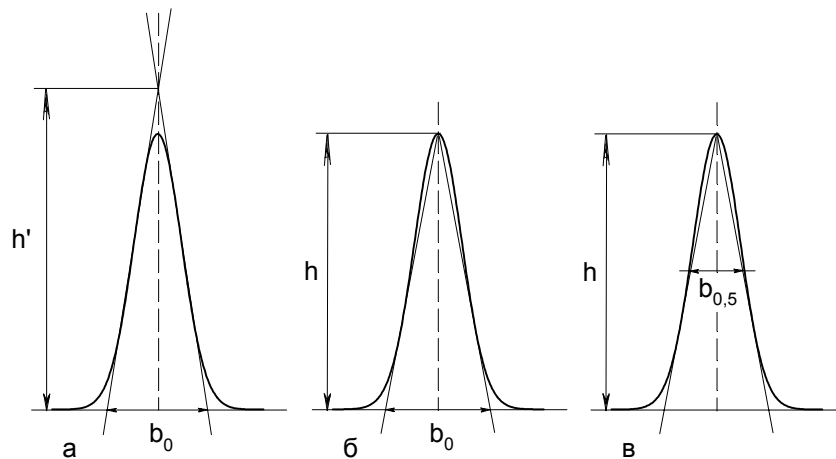


Рисунок 30 – Методы триангуляции:

а) метод описанного треугольника $\frac{1}{2} \cdot h' \cdot b_0$; б) метод $\frac{1}{2} \cdot h \cdot b_0$; в) метод $h \cdot b_{0,5}$

Этот метод дает около 97% (96,8%) от площади гауссова пика. Недостатки этого метода состоят в необходимости дополнительных геометрических построений (проведение касательных), которые не всегда могут быть выполнены легко и с достаточной точностью. Особенно это касается узких пиков. При этом точка пересечения касательных может оказаться за пределами диаграммной ленты.

б). Во втором методе триангуляции (рис. 30, б) предложено экстраполировать «прямолинейные» участки ветвей пика только вниз до пересечения с основанием и площадь рассчитывать по формуле:

$$S = \frac{1}{2} \cdot h \cdot b_0 \quad (66)$$

Этим методом находят около 80% (79,8%) от площади гауссового пика. Здесь частично преодолеваются недостатки первого метода.

в). На практике наибольшее распространение получил третий метод триангуляции (рис. 30, в). Метод произведения высоты на ширину пика на половине его высоты. В этом случае геометрические построения упрощаются. Процесс измерения состоит из четырех операций, а именно:

- проведение основания под пиком (интерполирование нулевой линии между началом и концом пика);
- измерение высоты пика;
- нахождение середины высоты;
- измерение ширины пика на половине высоты.

Площадь рассчитывается по формуле:

$$S = h \cdot b_{0,5} \quad (67)$$

Этим методом находят около 94% (93,9%) от площади гауссова пика. Точность измерения площади в методе « $h \cdot b$ » зависит от формы и абсолютных размеров пика. Форму пика принято характеризовать отношением « $h / b_{0,5}$ ». Ошибка минимальна при $h / b_{0,5}$ равна 5–6%. С повышением абсолютных размеров пика точность измерения площади пика возрастает. Форму и абсолютные размеры пика можно изменять, изменяя скорость протяжки диаграммной ленты и пределы измерения, подбирая их оптимальными для определяемых компонентов.

Итак, рассмотренные методы триангуляции характеризуются разной систематической ошибкой измерения площади пиков. Однако эта ошибка не переходит в ошибку аналитического результата, если при расчетах количественного состава берется одна и та же доля от площади пика при калибровке прибора и анализе неизвестной смеси.

Истинная же площадь гауссова пика может быть найдена по формуле:

$$S_{\text{ист}} = h \cdot b_{0,368} \quad (68)$$

5.3.2 Расчет полной площади гауссового пика

Для полной площади гауссова пика в общем случае можно записать выражение:

$$S = C_r \cdot h \cdot b_r, \quad (69)$$

где C_r – коэффициент, учитывающий уровень, на котором измеряется ширина пика.

$$C_r = \frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\sigma}{\lg 1/r} \right)^{1/2} \quad (70)$$

В частности, для некоторых уровней этот коэффициент принимает следующие значения:

r	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
C_r	0,584	0,699	0,808	0,926	1,064	1,240	1,484	1,876

В случае узких пиков для повышения точности, измерения рекомендуются проводить на низких уровнях.

5.3.3 Методы расчета площадей зашкаленных пиков

Известно несколько методов расчета площадей зашкаленных («срезанных») пиков. Эти методы позволяют в некоторых случаях сократить время анализа, избавляя от необходимости повторного снятия хроматограммы при меньшем объеме пробы или более грубом пределе измерения. В то же время они дают возможность получить четкую хроматограмму пробы, содержащую примеси, без переключения масштаба записи во время анализа, что может вносить погрешности из-за несоответствия номинальных значений масштабных коэффициентов истинным значениям. Первый метод расчета заключается в аппроксимации полной площади, измеряемого пика площадью описанного треугольника (рис. 31).

Для площади треугольника можно вывести формулу:

$$S = \frac{(x \cdot y_c - x_c \cdot y)^2}{(x - x_c) \cdot (y_c - y)} \quad (71)$$

Рисунок 31 – Расчет площади зашкаленного пика

где $x = PN$; $y = PO$; $x_c = O'C$; $y_c = OO'$

Во втором методе расчета также рассчитывается площадь треугольника DFE. «Прямолинейные» участки сторон пика экстраполируются вниз до пересечения с основанием и измеряется отрезок DE.

Площадь описанного треугольника рассчитывается по формуле:

$$S = \frac{x_0^2 \cdot y_c}{x_0 - x_c} \quad (72)$$

где $x_0 = 1/2 DE$.

В третьем методе площадь зашкаленного пика вычисляется по формуле:

$$S = 2,507 h \cdot \sigma \quad (73)$$

где h и σ – расчетные величины.

$$\sigma = 0,465 \cdot \left[\frac{(x + x_c) \cdot (x - x_c)}{\lg(y_c/y)} \right]^{1/2} \quad (74)$$

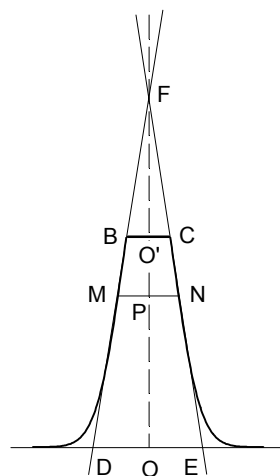
Высоту h находят из соотношения:

$$\lg h = \lg y_c + 0,212 \frac{x_c^2}{\sigma^2} \quad (75)$$

Третий метод позволяет рассчитывать площадь зашкаленного пика с ошибкой в среднем 6% во всем диапазоне высот среза, встречающихся в практике газовой хроматографии, в то время как точность первого способа резко падает, если на хроматограмме уместилось менее 0,5 – 0,6 полной высоты пика.

5.3.4 Определение площадей не полностью разделенных пиков

Рассмотрим случай наложения двух гауссовых пиков, когда огибающая имеет минимум (рис. 32). При наложении двух пиков происходит искажение измеряемых параметров пика (высоты и ширины). При этом



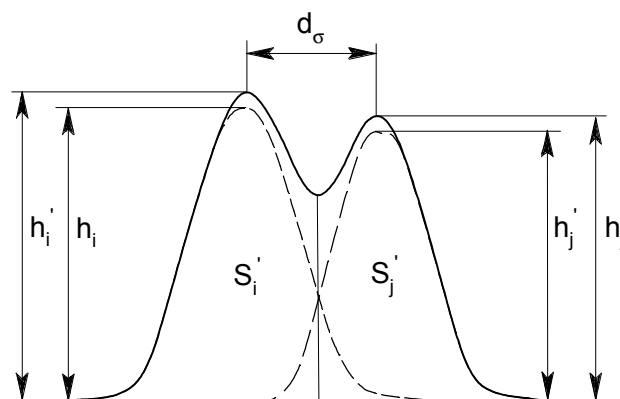


Рисунок 32 – Взаимное наложение двух пиков

степень искажения параметров зависит от полноты разделения и соотношения высот соседних пиков. Известны различные приемы расчета хроматограмм с не полностью разделенными пиками.

Метод Бартлета и Смита (корректировки высоты)

Площадь неразделенных пиков рассчитывается по обычной формуле для гауссовых пиков, например по формуле (73).

Однако в формулу подставляют значения истинных параметров пиков, а не измеренных линейкой на хроматограмме.

Корректировка высоты пиков, учитывающая их взаимное влияние, проводится согласно формуле:

$$h_i = h'_i - \%h_j \cdot h'_j \quad (76)$$

где h_i – действительная высота пика; h'_i – измеренная высота этого же пика; h'_j – измеренная высота другого пика; $\%h_j$ – поправочный коэффициент.

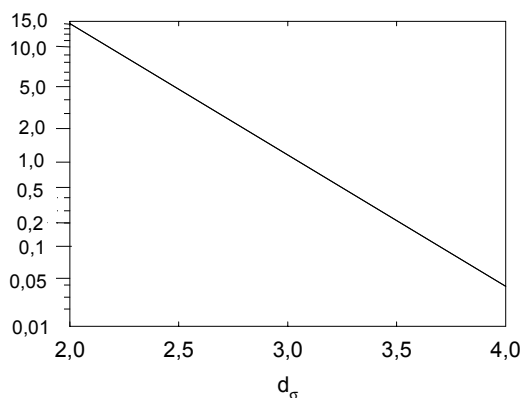
Поправочный коэффициент $\%h_j$ определяется по графику, представленному на рисунке 33, где по оси абсцисс отложено расстояние между двумя пиками, выраженное в единицах σ :

$$d_{\sigma_i} = \frac{(t_{R_j} - t_{R_i})}{\sigma} \quad (77)$$

где d_{σ_i} – расстояние между максимумами двух пиков, выраженное в единицах стандартного отклонения; t_{R_i} , t_{R_j} – время удерживания обеих пиков; σ – стандартное отклонение.

Рисунок 33 – Учет искажения высоты пиков при взаимном наложении.

Искажение ширины соседних пиков при наложении учитывают различными методами. Так, можно использовать графическую зависимость ширины пиков от времени удерживания. При этом предполагается, что на



хроматограмме, кроме пары плохо разделенных пиков, имеются хорошо разрешенные. Другой прием, позволяющий учесть искажение ширины соседних пиков, заключается в том, что записывают хроматограммы искусственных смесей, содержащих интересные компоненты, при этом их пики должны быть хорошо отделены от соседних пиков.

Метод опускания перпендикуляра

При взаимном наложении двух пиков площадь под огибающей кривой равна сумме площадей под индивидуальными пиками (рис. 26). В этом методе границей двух не полностью разделенных пиков является перпендикуляр, опущенный из минимума огибающей кривой на основание пиков. За площадь первого пика принимается площадь, лежащая слева от перпендикуляра, а за площадь второго пика принимается площадь, лежащая справа. Этот метод приближенный, поскольку перпендикуляр является истинной границей только в случае неразделенных пиков одинаковой высоты и ширины. Для того чтобы исключить систематические ошибки, измеренные площади умножают на значения поправочных коэффициентов [12].

С другими методами расчетов площади пика можно ознакомиться в справочнике [12].

5.4 МЕТОДЫ РАСЧЕТА СОСТАВА СМЕСИ ПО ХРОМАТОГРАММАМ

В теории количественного газохроматографического анализа делают два допущения:

Во-первых, предполагается идентичность состава пробы, введенной в хроматограф, и смеси анализируемых веществ. Это можно выразить равенством массовых долей определяемого компонента.

$$q_i = \frac{W_i}{W_n} = \frac{m_i}{m_n} \quad (78)$$

где W_i и m_i – масса определяемого компонента в отобранной пробе анализируемых веществ и дозируемой пробе соответственно; W_n и m_n – навеска анализируемой пробы и хроматографируемой пробы, соответственно.

Во-вторых, предполагается линейная зависимость между параметрами пика и содержанием компонента в пробе:

$$m_i = k_{ai} \cdot S_i, \quad (79)$$

где k_{ai} – коэффициент пропорциональности (абсолютный калибровочный коэффициент); S_i – площадь пика.

В линейном динамическом диапазоне детектора k_i величина постоянная и от величины пробы не зависит. Объединяя предыдущие два уравнения, получаем:

$$q_i = \frac{k_{ai} \cdot S_i}{m_n} \quad (80)$$

Итак, для определения состава анализируемой смеси необходимо учитывать различную чувствительность детектора к разным веществам, измерить количественный параметр пика и учесть массу пробы. Различные методы расчета состава смесей по хроматограммам, как будет видно из дальнейшего изложения, отличаются способом учета величины пробы. Известны четыре основных метода расчета состава смеси по хроматограммам: метод абсолютной калибровки, метод внутренней нормализации, метод внутреннего стандарта и метод стандартной добавки.

В методе абсолютной калибровки величина пробы измеряется непосредственно, а в других методах выражается или через суммарную площадь всех пиков (метод внутренней нормализации), через площадь пика постороннего компонента (метод внутреннего стандарта) или через площадь пика компонента сравнения (метод стандартной добавки).

5.4.1 Метод абсолютной калибровки

Метод основан на использовании зависимости между количеством компонента в пробе и параметрами пика. Эту зависимость определяют экспериментально, хроматографируя искусственные смеси, и выражают

либо в виде графика «Параметр пика — количество (концентрация)» (рис. 34), либо аналитически:

$$C_i = \frac{k_{m_{ai}} \cdot S_i}{m_n} \cdot 100, \text{ масс. \%} \quad (81)$$

или

$$C_i = \frac{k_{v_{ai}} \cdot S_i}{V_n} \cdot 100, \text{ об. \%} \quad (82)$$

где m_n и V_n — соответственно масса и объем введенной пробы.

Калибровка проводится как по определяемым, так и по стандартным соединениям. В последнем случае должны быть известны отношения массовых или молярных чувствительностей детектора к этим соединениям. Калибровку можно проводить, используя либо одинаковые по объему пробы, либо различные объемы постоянной концентрации. Первый способ обычно используют при анализе жидких проб, а второй при анализе газообразных.

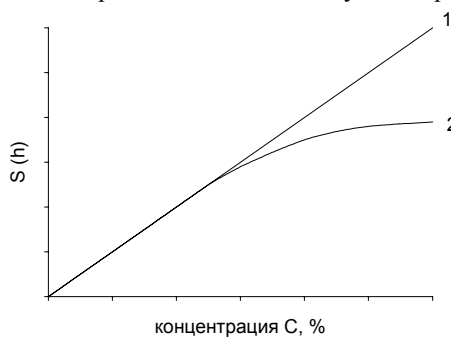
Метод абсолютной калибровки используется при работе, как с линейными детекторами, так и с нелинейными детекторами и при искажении параметра пика вследствие перегрузки колонки. При использовании этого метода требуется разделение только интересующих компонентов, поэтому он может применяться и при обратной продувке колонки, и при отсутствии отклика детектора к некоторым соединениям.

Метод абсолютной калибровки требует соблюдения полной идентичности условий хроматографического процесса при калибровке прибора и анализе исследуемой смеси. Необходимую информацию о работе прибора (газового хроматографа) может дать анализ стандартной смеси.

Точность результатов, получаемых этим методом, зависит от точности дозирования пробы. Этот метод рекомендуется использовать при введении пробы газовым краном-дозатором. Метод используется при контроле и регулировании технологических процессов с помощью промышленных (поточных) хроматографов. Метод является основным при анализе примесей.

Рисунок 34 — Зависимость параметра пика от количества (концентрации):

- 1 — прямолинейная зависимость;
- 2 — криволинейная зависимость.



5.4.2 Метод внутренней нормализации

Этот метод осуществляется в виде нескольких вариантов. В методе простой нормализации сумма площадей всех пиков принимается за 100% и концентрация любого компонента пробы рассчитывается как относительная площадь пика:

$$C_i = \frac{S_i}{\sum_{i=1}^n S_i} \cdot 100 \quad (83)$$

Необходимым условием применения этого метода является регистрация всех компонентов пробы и одинаковая чувствительность детектора к разным веществам. Для большинства детекторов это, в общем, справедливо, если анализируется смесь родственных соединений, молекулярные массы которых значительно не различаются или все компоненты пробы имеют большие молекулярные массы. Например, не требуется калибровка при анализе смеси циклогексана и бензола или при анализе изомеров ксилола. Этот вариант метода имеет ограниченное применение. В большинстве случаев приходится учитывать разный отклик детектора к различным веществам пробы с помощью калибровочных коэффициентов, зависящих от свойств вещества, способа детектирования, а также от конструкции детектора.

В основном варианте метода расчет проводится с учетом калибровочных коэффициентов:

$$C_i = \frac{S_i \cdot K_i}{\sum_{i=1}^n S_i \cdot K_i} \cdot 100 \quad (84)$$

где C_i – концентрация компонента i , %; S_i – площадь соответствующего пика;

K_i – калибровочный коэффициент; $\sum_{i=1}^n S_i \cdot K_i$ – сумма произведений площадей

пиков на относительные поправочные коэффициенты для всех пиков хроматограммы.

Достоинства метода внутренней нормализации состоят в том, что он не требует воспроизводимого ввода пробы по величине и тождественности условий анализа. Расчеты проводятся с использованием относительных калибровочных коэффициентов, которые мало чувствительны к небольшим изменениям в условиях проведения эксперимента.

Недостатки метода заключаются в трудности разделения всех компонентов сложных смесей, необходимости их идентификации и трудоемкости определения калибровочных коэффициентов, хотя некоторые компоненты могут и не представлять аналитического интереса. Недостатком метода является взаимозависимость точности определения одного компонента от точности определения остальных присутствующих в смеси. Ошибки в определении параметров пика или калибровочного коэффициента какого-либо одного компонента приводит к неверным результатам для всех компонентов пробы.

Метод используется в основном для рутинных анализов малокомпонентных смесей и для приближенных расчетов.

5.4.3 Метод внутреннего стандарта

Метод заключается в том, что к навеске анализируемого вещества добавляется известное количество внутреннего стандарта — постороннего соединения, дающего на хроматограмме хорошо разрешенный пик. Концентрация определяемого компонента в анализируемом веществе рассчитывается по формуле:

$$C_i = \frac{S_i \cdot K_i \cdot M_{\text{ст}}}{S_{\text{ст}} \cdot M_n} \cdot 100, \text{ масс.}\% \quad (85)$$

где $S_{\text{ст}}$ — площадь пика стандарта; $M_{\text{ст}}$ — масса добавленного внутреннего стандарта; M_n — масса пробы анализируемой смеси, к которой добавлено определенное количество внутреннего стандарта.

Приведенное уравнение может служить основой графического варианта рассматриваемого метода. В самом деле, это уравнение прямой, построенной в координатах:

$$C_i - \frac{S_i \cdot M_{\text{ст}} \cdot 100}{S_{\text{ст}} \cdot M_n}$$

Если $M_{\text{ст}}/M_n$ остается постоянным, тогда получают калибровочные графики в координатах:

$$C_i - \frac{S_i}{S_{\text{ст}}}$$

Рассмотрим подробнее требования к внутреннему стандарту. Внутренний стандарт должен:

- 1) иметь хорошо разрешенный пик, расположенный на хроматограмме рядом с пиками определяемых компонентов;

- 2) иметь летучесть, близкую определяемым компонентам;
- 3) отсутствовать в анализируемой смеси;
- 4) хорошо растворяться в анализируемой смеси, не реагировать с другими компонентами пробы;
- 5) добавляться в количестве, соизмеримом с анализируемыми компонентами.

Выполнение первого условия дает возможность точного измерения параметра пика, уменьшает влияние изменения чувствительности детектора из-за колебаний рабочих условий (расход газа-носителя, температура колонки и т.д.); второго — уменьшает ошибки, вызванные фракционированием пробы при вводе; третьего и четвертого — обеспечивает точное значение массы внутреннего стандарта; пятого — уменьшает влияние нелинейности детектора к различным количествам пробы.

Достоинства метода внутреннего стандарта состоят в том, что он не требует воспроизводимого ввода пробы по величине; малая зависимость результатов измерений от нестабильности работы хроматографа и детектора, т.к. эти факторы в равной мере влияют на определяемое и стандартное соединение. Далее, к достоинствам метода относится то, что здесь требуется разделять только анализируемые компоненты и стандарт. Ошибки в измерении параметров пика и калибровочного коэффициента (исключая стандарт) сказываются только на определении содержания соединения, для которого была допущена ошибка.

К недостаткам метода следует отнести трудность выбора, в ряде случаев, соединения-стандарта, удовлетворяющего перечисленным условиям.

Метод внутреннего стандарта применяется в основном при анализе жидкостей, поскольку при анализе газов трудно дозировать определенное количество внутреннего стандарта в газовую смесь.

5.4.4 Метод стандартной добавки

В ряде случаев при анализе сложных смесей выбор внутреннего стандарта вызывает затруднение. Здесь можно воспользоваться методом стандартной добавки. Для определения концентрации этим методом необходимо записать две хроматограммы:

- 1) анализируемой смеси;
- 2) обогащенной определяемым компонентом исходной смеси (анализируемая смесь + добавка определяемого компонента).

Концентрация в исходной смеси определяемого компонента и вещества-стандарта выражаются формулами:

$$C_i = \frac{M_{\text{ст}}}{M_n} \cdot \frac{100}{\frac{S_{\text{ст}2}}{S_{i2} \cdot K_i} - \frac{S_{\text{ст}1}}{S_{i1} \cdot K_i}}, \text{ масс. \%} \quad (86)$$

$$C_i = \frac{M_{\text{ст}}}{M_n} \cdot \frac{100}{\frac{S_{\text{ст}2}}{S_{i2}} \cdot \frac{S_{i1}}{S_{\text{ст}1}} - 1}, \text{ масс. \%} \quad (87)$$

где $S_{\text{ст}1}$ и $S_{\text{ст}2}$ – площадь пиков, принятых за стандарт, соответственно на хроматограмме исходной смеси и после добавления в нее стандарта (компонента, содержащегося в смеси); S_{i1} и S_{i2} – площадь пиков определяемого компонента i на хроматограмме исходной смеси и на хроматограмме смеси, в которую введен стандарт, соответственно; K_i – относительный (или абсолютный) поправочный коэффициент для компонента i .

К достоинствам метода стандартной добавки следует отнести то, что не требуется знания калибровочных коэффициентов. Недостаток — возрастающая продолжительность проведения анализа.

5.4.5 Экспериментальное определение абсолютных и относительных калибровочных коэффициентов

Абсолютные поправочные коэффициенты k_i — коэффициенты пропорциональности между количеством соединения, введенным в хроматограф, и интенсивностью сигнала детектора. Они зависят от типа и конструкции детектора, природы анализируемого соединения и условий анализа. С введением этих коэффициентов количественный хроматографический параметр (высота, площадь) в условиях эксперимента становится пропорциональным только количеству соответствующего соединения:

$$k_i = \frac{m_i}{S_i} \quad (88)$$

Для определения k_i необходимо приготовить смесь строго определенных количеств (по массе или объему) анализируемых компонентов. Содержание компонентов в модельной смеси должно быть по возможности близким к составу анализируемой смеси. Далее проводят хроматографическое разделение определенного объема (или массы) модельной смеси и рассчитывают количество введенного в хроматограф данного компонента смеси по формуле:

$$m_i = M \cdot \frac{q_i}{Q} \cdot 100 \quad (89)$$

где m_i – количество компонента i , введенное в хроматограф; M – количество всей смеси, введенной в хроматограф; q_i – содержание компонента i в модельной смеси; Q – общее количество приготовленной модельной смеси

После этого измеряют площади пиков компонентов и по приведенной выше формуле (87) рассчитывают поправочные коэффициенты.

Относительный массовый калибровочный коэффициент f_i вычисляют по формуле:

$$f_i = \frac{m_i \cdot S_{\text{ст}}}{m_{\text{ст}} \cdot S_i} = \frac{a_i \cdot S_{\text{ст}}}{a_{\text{ст}} \cdot S_i} \quad (90)$$

где m_i и $m_{\text{ст}}$ – масса введенного в хроматограф компонента i смеси и компонента, принятого за стандарт, соответственно; S_i и $S_{\text{ст}}$ – площадь пиков компонента i и компонента, принятого за стандарт; a_i и $a_{\text{ст}}$ – содержание в смеси компонента i и стандарта, выраженное в масс. %.

Относительные молярные поправочные коэффициенты используют в тех случаях, когда конечные результаты расчетов по тем или иным причинам желательно получить в молях или в молярных процентах:

$$f_i^{\text{mol}} = \frac{N_i \cdot S_{\text{ст}}}{S_i \cdot N_{\text{ст}}} = \frac{b_i \cdot S_{\text{ст}}}{b_{\text{ст}} \cdot S_i} \quad (91)$$

где N_i и $N_{\text{ст}}$ – число молей i -го компонента и стандарта, введенного в хроматограф; b_i и $b_{\text{ст}}$ – содержание в смеси компонента i и стандарта, выраженное в моль %.

Для экспериментального определения относительных калибровочных коэффициентов необходимо приготовить стандартную смесь и записать несколько хроматограмм этой смеси. Расчет относительных калибровочных коэффициентов производится по приведенным выше формулам.

Относительные калибровочные коэффициенты показывают, во сколько раз площадь пика стандартного соединения больше площади пика определяемого компонента, когда введенные количества (концентрации) компонентов одинаковы, т.е. они учитывают различную чувствительность детектора к различным компонентам.

Зависимость между массовым и молярным поправочными коэффициентами определяются следующим соотношением:

$$f_i = f_i^{\text{mol}} \cdot \frac{M_i}{M} \quad (92)$$

где M_i – молекулярная масса компонента i ; M – молекулярная масса того компонента, для которого коэффициенты f_i и f_i^{mol} приняты за единицу.

Глава VI. ПРАКТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ

ОБЩИЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

Предлагаемые практические работы в подавляющем большинстве рассчитаны на использование хроматографов «ЦВЕТ» Дзержинского ОКБА. Однако можно применять и другие газовые хроматографы, не уступающие по своим возможностям рекомендуемым (например, современные модели приборов МПО «Манометр»). Успешное выполнение практической работы предполагает обязательное усвоение теоретического материала в объеме программы лекционного курса по газожидкостной хроматографии, ознакомление с аппаратурой и неукоснительное соблюдение правил ее эксплуатации. Лишь при выполнении этих условий студенты не выйдут за рамки отпущенного им лимита времени (6 – 8 часов на каждую работу), а к концу практикума смогут приобрести необходимые навыки по проведению типовых хроматографических анализов.

ВНИМАНИЕ! *Студентам разрешается приступать к той или иной практической работе лишь после согласования с преподавателем основных этапов ее выполнения и последовательности операций: по включению и выведению хроматографа на рабочий режим; по проведению собственно хроматографического анализа; по обработке полученных хроматограмм. С полученными от лаборанта для выполнения той или иной работы инструментами и, особенно, микрошприцами необходимо обращаться бережно. Внимательно ознакомьтесь с инструкцией по их эксплуатации. Не забывайте промывать микрошприцы подходящим растворителем и просушивать их в струе воздуха от компрессора или в вакууме водоструйного насоса, перед дозированием каждого очередного анализируемого образца. Пренебрежение этой процедурой может привести к значительному искажению результатов анализа. О каждой выполненной лабораторной работе должен быть составлен отчет в рабочей тетради. Вместе с отчетом преподавателю необходимо предъявлять итоговые хроматограммы. Хроматограмма должна рассматриваться как рабочий документ, на котором непосредственно во время работы студент должен обязательно записывать все условия проведения анализа, количество (дозу) и название анализируемого образца, отмечать момент ввода пробы и делать, кроме того, вспомогательные заметки, облегчающие расшифровку хроматограмм. Последовательность выполнения и количество лабораторных работ во время практикума, определяется преподавателем и индивидуальна для каждо-*

го студента. Рекомендуемые режимы работы хроматографа являются ориентировочными, оптимальный режим определяется экспериментально непосредственно при подготовке к конкретному анализу и выполняется под руководством преподавателя.

В приложении 2 приведен образец оформления практических работ.

Практическая работа № 1

Приготовление набивных колонок

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: знакомство с основными приемами нанесения неподвижной жидкой фазы (НЖФ) на твердый носитель.

В процессе выполнения работы студенты знакомятся с приготовлением сорбентов тремя методами: испарением из чашечки, нанесение НЖФ в вакууме, нанесение НЖФ в кипящем слое.

Полученные сорбенты будут использованы в лабораторной работе № 3: «Оценка качества набивной колонки».

Материалы, посуда, оборудование:

Твердые носители трех типов: белый диатомитовый, розовый диатомитовый и полимерный (по выбору преподавателя). Неподвижная жидкая фаза (по выбору преподавателя). Растворитель — ацетон или другой подходящий в зависимости от НЖФ.

Весы технические и аналитические. Мерные цилиндры на 10 и на 100 мл. Стеклоаналитическая воронка. Пипетки стеклянные. Сушильный шкаф. Чашка фарфоровая и шпатель. Вентилятор или фен. Воронка Бюхнера. Электронасос. Фильтровальная бумага. Колонка хроматографическая. Стеклоаналитическая и деревянная палочки. Конические и круглодонные колбы на 100 мл, эксикатор.

Ход работы:

Предварительно рассчитывают *геометрический объем хроматографической колонки* (V_k) заданных размеров по формуле:

$$V_k = \frac{\pi \cdot d_k^2}{4} \cdot L_k = \pi \cdot r_k^2 \cdot L_k$$

где d_k и r_k — внутренний диаметр и радиус колонки соответственно, см; L_k — длина колонки, см.

Объем твердого носителя должен превышать на 20–25% объем колонки. Вновь взвешивают и рассчитывают массу твердого носителя (g) и его насыпную плотность (g/cm^3).

В том случае, если твердым носителем является розовый диатомитовый, то количество НЖФ, по отношению к его весу, в данной работе должно быть 20%, для белого диатомитового — 10%, для полихрома — 5%.

Пример: внутренний диаметр колонки равен — 0,4 см; длина колонки — 200 см; твердый носитель — хроматон N-AW-DMXS (белый диатомит).

$$V_k = \frac{3,14 \cdot (0,4)^2}{4} \cdot 200 = 25,1 \text{ см}^3$$

Практически объем должен превышать 20%, тогда:

$$\begin{array}{rcl} 25,1 & \text{—} & 100\% \\ X & \text{—} & 20\% \end{array} \quad X = 5 \text{ см}^3$$

Объем носителя необходимый для заполнения составляет: $25,1 + 5 = 30,1 \text{ см}^3$.

В рабочем журнале произведите соответствующие расчеты.

Получение сорбента (см. главу 2.3.4)

Вариант А: Метод «испарения из чашечки»

В мерный цилиндр (предварительно взвешенный на технических весах) засыпают порциями (по 2–3 г) выбранный твердый носитель. При этом следует время от времени постукивать цилиндр, чтобы утрамбовать твердый носитель.

В коническую колбу берут рассчитанное количество НЖФ и растворяют в подходящем растворителе и выливают этот раствор на твердый носитель, перенесенный в фарфоровую чашечку. Объем приготовленного раствора НЖФ должен быть такой, чтобы при смешивании с твердым носителем над поверхностью образовывался слой жидкости высотой 5 мм.

Равномерно (осторожно) периодически перемешивая шпателем образовавшуюся суспензию, испаряют растворитель на водяной бане. После того как насадка станет сыпучей и исчезнет запах растворителя, ее досушивают при температуре 70–100 °С в сушильном шкафу в течение 3–4 ч. Затем приготовленный сорбент охлаждают в эксикаторе.

Вариант Б: Приготовление сорбента в «кипящем слое»

Необходимое количество твердого носителя помещают на фильтровальную бумагу в воронке Бюхнера. Стебель воронки соединяют резиновым шлангом (через склянку с концентрированной серной кислотой) с редуктором баллона со сжатым газом или с электронасосом.

Выливают на твердый носитель приготовленный раствор НЖФ (объем раствора должен на 20–25% превышать взятый объем твердого носителя) и регулируют расход газа, стремясь обеспечить умеренное «кипение» частиц твердого носителя в растворе НЖФ (*осторожно!*). После испарения растворителя сорбент досушивают в сушильном шкафу (см. вариант А).

Заполнение колонки

Предварительно промытую органическим растворителем и тщательно высушенную колонку (U- или W-образную металлическую или стеклянную) заполняют приготовленным сорбентом. При этом насыпают небольшими порциями через воронку, постукивая по трубке вакуумным шлангом. Можно применить специальный вибратор. Он обеспечивает быстрое и равномерное наполнение колонки сорбентом и повышает ее эффективность. Колонка считается заполненной, если в течение 5 мин «постукивания» уровень засыпанного сорбента не изменяется.

При заполнении спиральных колонок заполнение ведется с использованием вакуума (на выходе из колонки) или с использованием избыточного давления (на входе в колонку). Один из концов колонки закрывают тампоном из ваты, стекловолокна или тонкой металлической сеткой и подключают к водоструйному или электронасосу. К открытому концу колонки прикрепляют стеклянную воронку для засыпания сорбента. Создав разрежение, начинают осторожно присыпать насадку, постукивая по колонке деревянной палочкой для достижения равномерного заполнения. В случае стеклянных колонок степень заполненности колонки ведут визуально, для металлических — судят по прекращению убыли насадки в воронке.

Сорбент перед заполнением взвешивают, оставшийся после заполнения колонки также взвешивают. По разности определяют точное количество сорбента, засыпанное в колонку. Количество сорбента в колонке можно рассчитать и как разность весов колонки с сорбентом и колонки пустой (перед заполнением). Открытые концы колонок закрывают стеклянной или пробками из металлической сетки.

Практическая работа № 2

Приготовление капиллярных колонок для ГЖХ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: приготовление капиллярных коронок, определение качества приготовления, селективности НЖФ, оценка пригодности колонки для анализа конкретного объекта.

Учебной целью работы является овладение техникой приготовления необходимых растворов, подготовки поверхности капилляра к нанесению жидкой фазы, ознакомление с необходимым лабораторным оборудованием и методами оценки качества капиллярных колонок, использование теоретических знаний, полученных при изучении физической и органической химии и дисциплин специальности для обоснования выбора фаз и объяснения полученных результатов.

Ход работы:

Сущность метода заключается в смачивании внутренней поверхности капилляра при пропускании через него определенного объема раствора жидкой фазы под действием повышенного давления инертного газа.

Приготовление капиллярных трубок для нанесения НЖФ на их внутреннюю поверхность

При подготовке поверхности капиллярной колонки первым этапом является ее очистка от масел и загрязнений, обусловленных условиями технического изготовления. Очистка капиллярной трубки осуществляется пропусканием определенного количества органических растворителей. Для продавливания растворителей служит специальное устройство. Капиллярная колонка устанавливается с помощью накидной гайки через резиновое уплотнение в патрон для импрегнирования капиллярных колонок таким образом, чтобы капилляр на 2–3 мм не доставал до дна сосуда с растворителем. Откручивая стакан, в сосуд с растворителем заливается необходимый растворитель и стакан устанавливается на место. Патрон с помощью гайки соединяется с редуктором, все резьбовые соединения герметизируются, в патрон подается гелий под давлением $0,5 \cdot 10^5$ Па.

Промывание капилляра растворителями осуществляется в определенной последовательности:

- очистка поверхности от масел проводится промывкой спирто-бензольной смесью (1:1) до тех пор, пока на фильтре, куда собирают капли растворителя после колонки, не перестанут оставаться масляные пятна;

- высушивание капилляра пропусканием сухого гелия в течение 1 ч;
- двух- трехкратная промывка порциями по 10 мл бензола;
- высушивание;
- однократная промывка раствором хромовой смеси лимонного цвета;
- трехкратная промывка дистиллированной водой;
- трехкратная промывка этиловым спиртом;
- высушивание сухим гелием в течение 12 ч;
- однократная промывка ацетоном, этилацетатом, хлороформом, бензолом, гексаном, растворителем, который будет использоваться для нанесения НЖФ.

После каждой промывки капилляр сушится в токе сухого чистого гелия в течение 1 ч. Все промывные растворы и растворители берутся порциями по 10 мл, скорость пропускания через капилляр устанавливается такой, чтобы одна порция проходила через колонку за 2,5–3 ч. По окончании промывки капилляр тщательно высушивается пропусканием сухого инертного газа в течение 2–3 ч.

Нанесение НЖФ на внутреннюю поверхность капилляра

Нанесение НЖФ производится динамическим способом. Сущность метода описывалась нами в главе 2.3.4.

Нанесение сквалана

Тщательно отфильтрованный 10%-ный раствор сквалана в диэтиловом эфире наливают в сосуд для импрегнирования, устанавливают давление газа $0,2 \cdot 10^5$ Па. Как только появится первая капля раствора на выходе капилляра, давление газа сбрасывают до $0,1 \cdot 10^5$ Па. После пропускания пробки раствора капилляр продувают гелием в течение суток. Меняют концы капиллярной колонки и при давлении $0,1 \cdot 10^5$ Па продувают еще двое суток, непрерывно.

Нанесение апиезона

Нанесение апиезона проводится в термостате хроматографа при температуре 60°C . Отфильтрованный 5%-ный раствор апиезона в бензоле наливают в сосуд устройства для продавливания раствора через капилляр, помещают в стакан и нагревают термостат до 60°C , затем устанавливают давление газа на входе колонки $0,4 \cdot 10^5$ Па. Как только появится первая капля раствора на выходе капилляра, давление газа сбрасывают до $0,2 \cdot 10^5$ Па. После пропускания пробки раствора капилляр продувают

газом в течение 12 ч, меняют концы колонки местами и продувают еще двое суток непрерывно.

Кондиционирование капиллярных колонок

По окончании смачивания капиллярную колонку сначала в течение нескольких часов промывают гелием с такой объемной скоростью, с которой проводилось смачивание. Расход газа постепенно увеличивают от 0,01–0,05 до 1–1,5 мл/мин и продувают еще в течение суток.

Затем колонку помещают в термостат хроматографа, продувая постоянным потоком газа-носителя, нагревают со скоростью 1–2°C/мин до температуры 130°C и выдерживают в течение 24 ч.

По окончании нагревания колонку медленно охлаждают, не прекращая продувать ее газом-носителем, и она готова к работе.

Установка капиллярных колонок в хроматограф

Капиллярная колонка устанавливается в термостат хроматографа таким образом, чтобы один конец в испарителе был на уровне сброса, а другой доходил до упора в форсунку или входил в ее отверстие пламенно-ионизационного детектора. После этого подают газ-носитель и устанавливают заданный расход газа через колонку.

Для проверки правильности установки колонки в нее вводят несорбирующееся соединение, например, метан. По форме пика метана можно судить о правильности установки колонки и функционирования хроматографа. Если пик узкий и симметричный, колонка закреплена правильно. Если задний фронт пика растянут, это значит, что один или два конца капиллярной колонки недостаточно глубоко входят в поток газа-носителя, в результате чего введенный метан поступает в колонку (или выходит из колонки) только в результате диффузии.

Практическая работа № 3

Оценка качества набивных колонок

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: познакомиться с приемами работ по оценке качества набивной колонки, сорбент для которой был приготовлен при проведении предыдущей практической работы.

Данная лабораторная работа является продолжением практической работы «Приготовление набивных колонок».

Аппаратура, условия и объекты хроматографирования (параметры хроматографирования могут быть изменены):

Хроматограф «Цвет-530» или другой с ДИП. Насадочная колонка (100x0,3) см.

Газ-носитель	– аргон
Температура термостата колонок	– 100°C
Температура термостата испарителя	– 130°C
Температура термостата ДИП	– 130°C
Скорость газа-носителя	– 10 мл/мин
Шкала чувствительности детектора (подбирается экспериментально)	– 128x109
Объем вводимой пробы	– 0,4 мкл
Скорость ленты самописца	– 0,6 см/мин
Сорбент	– инертон AW-DMXC (0,16 – 0,12 мм)
Неподвижная жидкая фаза	– карбовакс-6000 (10%)

Ход работы:

Кондиционирование

Свежезаполненные колонки нуждаются в тренировке. Колонка помещается в хроматограф и проводится кондиционирование (постепенный нагрев колонки со скоростью 1°C/мин, в слабом потоке газа-носителя до температуры на 20°C меньшей максимально-допустимой (для данной НЖФ), при которой колонка выдерживается не менее 2 ч). После этого температура снижается до рабочей; оценка качества колонки выполняется при этой температуре.

Оценка качества приготовления колонки

Устанавливается оптимальная скорость газа-носителя (линейная скорость газа-носителя 8–10 мл/сек).

Выведя прибор на режим, вводят по отдельности все соединения, предложенные преподавателем.

Расчет

Число теоретических тарелок рассчитывают по формуле (16):

$$n = 16 \cdot (l_R / b_0)^2 = 5,54 \cdot (l_R / b_{0,5})^2,$$

где l_R – расстояние удерживания, мм; b_0 и $b_{0,5}$ – ширина пика у основания, и на половине его высоты соответственно, мм.

Эффективность колонки вычисляют по уравнению (18):

$$\text{ВЭТТ (H)} = \frac{L_K}{n} = \frac{L_K}{5,54} \cdot \left(\frac{b_{0,5}}{l_R} \right)^2 = \frac{L_K}{16} \cdot \left(\frac{b_0}{l_R} \right)^2$$

где L_K – длина колонки, мм; n – число теоретических тарелок в колонке; b_0 и $b_{0,5}$ – ширина пика у основания и на половине его высоты соответственно (см. рис. 27); l_R – расстояние удерживания стандартного соединения.

По высоте эквивалентной теоретической тарелки оценивают качество заполнения колонки. По асимметричности пика конкретного соединения определяют наличие адсорбционных эффектов.

Результаты заносятся в таблицу 1.

Таблица 1 – Параметры оценки качества приготовления колонки

Анализируемые соединения	t_R , с	$b_{0,5}$, мм	n	h , мм	K_{as}	t_M , с	I'_R , см

Далее вводится смесь соединений, предложенная преподавателем. По результатам разделения определяются: коэффициенты емкости k , число теоретических тарелок n ; селективность разделения α ; коэффициенты разделения пар спиртов R_S , и сравнивают с теоретически ожидаемой величиной.

ВЭТТ является суммарной характеристикой разделения, но ее величина зависит от времени удерживания разделяемых веществ. Поэтому для сравнения эффективности разделения необходимо определить величину разрешения R_S (уравнение 33):

$$R_S = \frac{2 \cdot (t_{R2} - t_{R1})}{b_{0(1)} + b_{0(2)}}$$

где t_{R1} и t_{R2} – неисправленное время удерживания (или соответственно расстояние, объем) двух соединений; $b_{0(1)}$ и $b_{0(2)}$ – ширина пиков этих двух соединений при основании.

Так как у не полностью разрешенных пиков ширина при основании определяется с большой погрешностью, то для практической работы удобнее применять величину разрешения K_S (уравнение 34):

$$K_S = \frac{\Delta l_R}{b_{0,5(1)} + b_{0,5(2)}}$$

где Δl_R – расстояние между вершинами двух соседних пиков, для которых рассчитывается K ; $b_{0,5(1)}$ и $b_{0,5(2)}$ – ширина этих пиков на половине их высоты.

Связь между двумя критериями осуществляется соотношением (уравнение 35):

$$K_S = 0,848 \cdot R_S.$$

Зависимость R_S от параметров колонки выражается уравнением:

$$R_S = \frac{\sqrt{n}}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \cdot \left(\frac{k}{k + 1} \right)$$

где α – селективность жидкой фазы (всегда больше или равна 1) или коэффициент разделения; k – коэффициент емкости второго (в паре) хроматографируемого соединения; n – число теоретических тарелок в колонке.

Обычно селективность неподвижной фазы выражают через относительное удерживание критической пары компонентов (уравнение 32):

$$\alpha = t'_{R2} / t'_{R1} = l'_{R2} / l'_{R1}$$

где: t'_{R2} и t'_{R1} – приведенное время удерживания; l'_{R2} и l'_{R1} – приведенное расстояние удерживания.

Отношение исправленного времени к "мертвому" — коэффициент емкости (извлечения) k , является характеристикой продолжительности нахождения молекул соединения в неподвижной фазе относительно времени их пребывания в подвижной газовой фазе (уравнение 5):

$$k = \frac{t'_R}{t_M}$$

По окончании работы составляется таблица 2.

Таблица 2 – Характеристики качества анализируемой колонки

Компоненты смеси	t_R , с	t'_R , с	Δl , см	n	k	R_S	
						расчетн.	эксп.

Опишите *характеристики анализируемой колонки* по следующему плану:

- 1) длина колонки и ее диаметр;
- 2) твердый носитель, размер его зерен;
- 3) неподвижная жидкая фаза и величина содержания ее на твердом носителе;

- 4) высота, эквивалентная теоретической тарелке для какого-либо соединения, лучше для трех (неполярного, среднеполярного и высокополярного);
- 5) коэффициент асимметричности пиков для отмеченных трех соединений;
- 6) дата приготовления колонки.

На основании полученных данных сделайте **выводы**:

1. О пригодности приготовленной колонки:
 - для проведения анализа смеси спиртов;
 - для проведения анализа среднеполярных соединений;
 - для проведения анализа смесей высокополярных соединений.
2. О качестве заполнения колонки.
3. О влиянии адсорбционных эффектов на форму пика.

Практическая работа № 4

Качественный анализ по параметрам удерживания

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: 1) Провести идентификацию соединений с использованием эталонных образцов методом «сравнения» и методом «добавки»; 2) Познакомиться с возможностью групповой идентификации исследуемых веществ на основе графических зависимостей между характеристиками удерживания веществ, их строением, свойствами и условиями опыта.

Аппаратура, условия и объекты хроматографирования (параметры хроматографирования могут быть изменены):

Хроматограф «Цвет-530» или другой с ДИП. Насадочная колонка (100x0,3) см.

Газ-носитель	– аргон
Температура термостата колонок	– 100°C
Температура термостата испарителя	– 130°C
Температура термостата ДИП	– 130°C
Скорость газа-носителя	– 10 мл/мин
Шкала чувствительности детектора (подбирается экспериментально)	– 128x109
Объем вводимой в испаритель пробы	– 0,4 мкл
Скорость ленты самописца	– 0,6 см/мин
Сорбент	– инертон AW-DMXC (0,16 – 0,12 мм)
Неподвижная жидкая фаза	– карбовакс-6000 (10%)

Искусственные смеси:

Возможны следующие гомологические ряды (по выбору преподавателя):

1. *n*-Гексан, *n*-октан, *n*-нонан;
2. Бензол, толуол, этилбензол;
3. Этанол, пропанола, бутанола, пентанола;
4. Ацетон, метилэтилкетон, диэтилкетон.

Ход работы:

Выведите хроматограф на рабочий режим.

Определите время выхода несорбирующегося компонента. Сделайте 2–4 параллельных определения до получения воспроизводимых результатов.

Проанализируйте эталонные смеси, отмечая времена удерживания выходящих компонентов по секундомеру или с помощью интегратора. Необходимо добиться воспроизводимости времени удерживания, для чего сделать 2–3 параллельных ввода. Размер дозы и чувствительность шкалы регистратора необходимо подобрать так, чтобы пики на диаграммной ленте занимали 2/3 ее ширины.

Закончив хроматографирование искусственной смеси, приступайте к анализу (в тех же условиях) соединений, которые предстоит идентифицировать в этой смеси.

Возьмите один из эталонных образцов и определите его параметры удерживания на обеих колонках (делать по 2–3 параллельных определения). Сравните полученное время удерживания эталонного образца с временами удерживания, соединений входящих в состав смеси (сравнивают данные, полученные на одной и той же колонке). Идентифицируйте это соединение на хроматограмме исходной смеси.

Возьмите эталонный образец (тот же), добавить его в исходную смесь и проанализируйте аналогично, описанному выше (на обеих колонках, проводя по 2–3 параллельных определения). Определите относительное время удерживания, отметить на хроматограмме сигнал, площадь которого увеличилась. Предположительно этот сигнал соответствует наименованию эталонного образца. Точную идентификацию проведите с учетом соображений, высказанных выше.

Повторите описанный ход работы, взяв для анализа следующий эталонный образец. В результате проделанного анализа сделайте идентификацию определяемого образца на хроматограмме исходной смеси.

На одной из хроматограмм смеси и эталонного образца (любого) измерьте расстояние удерживания. Сравните данные для смеси и для эталона, пересчитать мм в с и сравнить с данными секундомера, получен-

ными при анализе. Таким образом, необходимо научиться переводить параметр «расстояние удерживания» в параметр «время удерживания».

По указанию преподавателя представьте некоторые данные в виде параметра–«объем удерживания».

Заполните таблицу. Напишите на хроматограмме исходной и анализируемой смеси наименования компонентов. Хроматограммы приложите к отчету:

Таблица – Параметры качественного анализа

Вещество		t_R , с	t'_R , с	l'_R , мм	V'_R , мл	$\lg V'_R$	Порядок выхода компонентов
1.							
2.							
3.							
Искусственная смесь	X_1						
	X_2						
	X_3						

На основании полученных данных для смесей известного состава построить график зависимости логарифмов приведенных объемов удерживания на фазе карбовакс-6000 (полярная) от логарифмов приведенных объемов удерживания. Возможно использование и других НЖФ. С помощью построенного графика провести идентификацию анализируемых неизвестных соединений.

Отразите в **выводе** результаты полученного исследования.

Практическая работа № 5

Количественный анализ смеси различными методами

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: Определить количественный состав анализируемой смеси двумя методами (по указанию преподавателя).

Аппаратура, условия и объекты хроматографирования (параметры хроматографирования могут быть изменены):

Хроматограф «Цвет-530» или другой с ДИП. Насадочная колонка (100x0,3) см.

Газ-носитель	– аргон
Температура термостата колонок	– 100°C
Температура термостата испарителя	– 130°C

Температура термостата ДИП	– 130°C
Скорость газа-носителя	– 10 мл/мин
Шкала чувствительности детектора (подбирается экспериментально)	– 128х109
Объем инжектирования	– 0,4 мкл
Скорость ленты самописца	– 0,6 см/мин
Сорбент	– инертон АW-DMXC (0,16 – 0,12 мм)
Неподвижная жидкая фаза	– карбовакс-6000 (10%)

Объект анализа: Смесь, использованная в предыдущей работе или новая, выданная преподавателем.

Объект хроматографирования: 1% или 3% или 5% растворы этилового спирта, в качестве внутреннего стандарта используется 4% *n*-пропиловый спирт. По указанию преподавателя исследуемые растворы могут быть заменены.

Ход работы:

Записываются три хроматограммы анализируемой смеси. Вычисляют значения площадей пиков по формуле (55). Необходимые дополнительные построения выполняют тонко отточенным карандашом. При измерении ширины пиков пользуются измерительной лупой и при этом учитывают ширину линии, записываемой пером регистратора. Данные для трех хроматограмм заносят в таблицу.

Таблица 1 – Количественный анализ

Соединение	h, мм	b _{0,5} , мм	S, мм ²	n	S _w

На основании полученных данных рассчитывают воспроизводимость измерения высот и площадей пиков.

Коэффициент вариации вычисляется по формуле:

$$n = \frac{S_w}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

где S_w – средняя квадратичная погрешность определения параметра пика,

$$S_w = W \cdot K_w$$

где W – разность между наибольшим и наименьшим значениями ряда измерений;
K_w – статистический фактор, зависящий от числа измерений (см. табл. 2).

Таблица 2. Значения фактора K_w для расчета приближенного стандартного отклонения

Число параллельных определений	2	3	4	5	6	7	8	9	10
K_w	0,89	0,59	0,49	0,43	0,40	0,37	0,35	0,34	0,33

Концентрацию веществ в смеси определите одним из предлагаемых ниже методов.

Анализ контрольной смеси методом внутренней нормализации

Вводится в хроматограф проба анализируемой смеси, содержащей известное число компонентов (n), измеряют площади всех пиков.

С помощью массовых коэффициентов отклика рассчитываются скорректированные площади пиков отдельных компонентов $f_i \cdot S_i$.

Массовую долю компонента (i) рассчитываем по формуле:

$$W_i = \frac{f_i \cdot S_i}{\sum_{i=1}^n f_i \cdot S_i}$$

В случае углеводородов и детектора ДИП для f_i справедливо равенство:

$$f_i = \frac{M_i}{\sum C_i},$$

где M_i – молекулярная масса компонента i , $\sum C_i$ – число углерода в молекуле этого компонента.

Пример: Дана пропан-бутановая смесь. Рассчитайте массовую долю пропана, исходя из следующих данных: в анализируемом газе были идентифицированы этан, пропан, изобутан, бутан, изопентан и пентан. Площади пиков на хроматограмме соответственно равны (в мм²): 24, 1520, 336, 1280, 125 и 18.

Решение:

$$W_{\text{пропан}} = \frac{\frac{44,10}{3} \cdot 1520}{\frac{30,07}{2} \cdot 24 + \frac{44,10}{3} \cdot 1520 + \frac{58,12}{4} \cdot 336 + \frac{58,12}{4} \cdot 1280 + \frac{72,15}{5} \cdot 125 + \frac{72,15}{5} \cdot 18} = 0,4631$$

Анализ контрольной смеси методом внутреннего стандарта

В пробу вводят раствор стандарта известной концентрации, смесь вводится в хроматограф и сравниваются площади пиков вещества (i) и стандарта (s).

Аналитическое определение проводят следующим образом: Смешивают определенный объем анализируемой пробы (V_i) с определенным объемом (V_s) раствора стандарта (s) известной концентрации $C_{m,s}$.

Определенный объем смеси вводится в хроматограф, измеряются площади пиков вещества (i) и вещества стандарта (s) по хроматограммам S_i и S_s .

Концентрацию $C_{m,i}$ вещества i рассчитывают по формуле:

$$C_{m,i} = \frac{V_s \cdot f_i \cdot S_i}{V_i \cdot f_s \cdot S_s} \cdot C_{m,s}$$

Величину f_i/f_s определяют как отношение площадей модельной смеси с известными концентрациями $C_{m,i} = C_{m,s}$.

Пример: Данным методом с ДИП с использованием внутреннего стандарта в крови был определен этанол, рассчитать его массовую концентрацию.

В качестве внутреннего стандарта применялся метилэтилкетон. Величину f_i/f_s определяли при анализе водного раствора этанола (i) и метилэтилкетона (s) одинаковых концентраций $C_{m,i} = C_{i,s} = 2$ мг/мл получили значения: $S_i = 401$ мм² и $S_s = 859$ мм². Тогда из вышеприведенного уравнения следует, что $f_i/f_s = 2,142$ (отношение $V_s \cdot C_{m,s}/V_i \cdot C_{m,i} = 1$). Собственно анализом крови были получены следующие данные: объем крови $V_i = 1$ мл, объем водного раствора стандарта с концентрацией $C_{m,s} = 1,014$ мг/мл, $V_s = 1$ мл, $S_i = 425$ мм² и $S_s = 615$ мм².

Решение:

$$C_{m(\text{этанол})} = \frac{1 \cdot 2,142 \cdot 425}{1 \cdot 615} \cdot 1,014 = 1,501 \text{ мг/мл}$$

Возможно определение концентрации (C) данным методом используя калибровочные коэффициенты (K), данный метод описан в главе V.

Можно построить калибровочный график зависимости: отношения площади исследуемого вещества к площади пика стандарта от концентрации определяемого вещества.

Полученные данные оформляются в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты эксперимента

C _{0,5}	Исследуемое вещество				Стандарт				$\frac{S_{B-ва}}{S_{CT}}$	К
	м, %	h, мм	b _{0,5} , мм	S, мм ²	м, %	h, мм	b _{0,5} , мм	S, мм ²		
	1									
	2									
	3									
	X									

$$K = m_i \cdot S_{CT} / m_{CT} \cdot S_i$$

$$m_n = K_{CT} \cdot S_{CT} / C_{CT}$$

$$C_X = K_{CT} \cdot S_{CT} / m$$

$$S = C_{0,5} \cdot h \cdot b_{0,5}$$

Анализ контрольной смеси методом стандартной добавки

К исследуемой пробе добавляют определенное количество анализируемого вещества (i). Проводится два ввода пробы: в первый раз вводится определенное количество исходной пробы, а во второй раз — определенное количество смеси, в которую введена стандартная добавка. Последовательность операций:

1. В хроматограф вводится определенный объем (V_i) анализируемой пробы, измеряется площадь S_i — площадь пика вещества (i) на хроматограмме.

2. Определенный объем анализируемой пробы (V_i^0) смешиваем с определенным объемом (V_s^0) раствора определяемого вещества (i = s) известной концентрации (C_s).

3. В хроматограф вводится определенный объем (V'_i) смеси, полученной по п. 2, измеряется площадь (S'_i) — площадь пика вещества (i) на хроматограмме.

4. Концентрацию ($C_{m,i}$) вещества (i) в исходной пробе рассчитывают по формуле:

$$C_{m,i} = \frac{V_s^0 \cdot C_{m,s}}{V_i^0} \cdot \left[\frac{S'_i \cdot V_i}{S_i \cdot V'_i} \cdot \left(1 + \frac{V_s^0}{V_i^0} \right) - 1 \right]^{-1}$$

Пример: Методом стандартной добавки идентифицирован бензол в нитроразбавителе. Рассчитать его концентрацию $C_{m,i}$ на основании следующих данных: объем введенной пробы — $V_i = 1$ мкл, $S_i = 865$ мм², $V_i^0 = 10$ мл, $V_s^0 = 5$ мкл, стандарт добавлен в виде чистого (неразбавленного) бензола, поэтому $C_{m,s}$ тождественна его плотности, т.е. $C_{m,s} = \rho = 0,879$ г/мл. После ввода новой пробы получаем: $V'_i = 1$ мкл, $S'_i = 1040$ мм².

Решение: В нашем случае $V_s^0/V_i^0 \ll 1$, поэтому этим соотношением можно пренебречь. Тогда получим:

$$C_{m(\text{бензол})} = \frac{5 \cdot 10^{-3} \cdot 0,879}{10} \cdot \left[\frac{1040}{867} \cdot \frac{1}{1} - 1 \right]^{-1} = 2,17 \cdot 10^{-3} \text{ г/мл}$$

Анализ контрольной смеси методом абсолютной калибровки

Существует два варианта: прямое сравнение и метод калибровочной кривой.

В случае **прямого сравнения** поступают следующим образом:

1. Вводится в хроматограф определенный объем (V_i) анализируемой пробы, измеряется площадь пика вещества (i) т.е. S_i , концентрацию которого необходимо определить.

2. В абсолютно тех же условиях хроматографирования вводим определенный объем (V_s) калибровочного раствора с известной концентрацией стандарта ($C_{m,s}$), измеряют S_s , т.е. площадь пика вещества (s).

3. Для расчета концентрации вещества (i) в анализируемой пробе используют уравнение:

$$C_{m,i} = \frac{f_i \cdot S_i \cdot V_s}{f_s \cdot S_s \cdot V_i} \cdot C_{m,s}$$

В случае, если калибровать стандартным раствором анализируемого вещества (i). Тогда $i = s$, исключается необходимость определения соотношения f_i / f_s и уравнение упрощается:

Методом **калибровочной кривой** пользуются очень часто при серийных анализах.

$$C_{m,i} = \frac{S_i \cdot V_s}{S_s \cdot V_i} \cdot C_{m,s}$$

С этой целью готовят растворы анализируемого вещества различной концентрации с учетом того, чтобы она не выходила за линейный динамический диапазон детектора.

Вводят в хроматограф определенное количество пробы, измеряют площади полученных пиков и строят калибровочную прямую зависимости концентрации вещества (C_i) от площади (S_i).

После чего от преподавателя получают вещество неизвестной концентрации, хроматографируют его в тех же условиях и определяют его концентрацию.

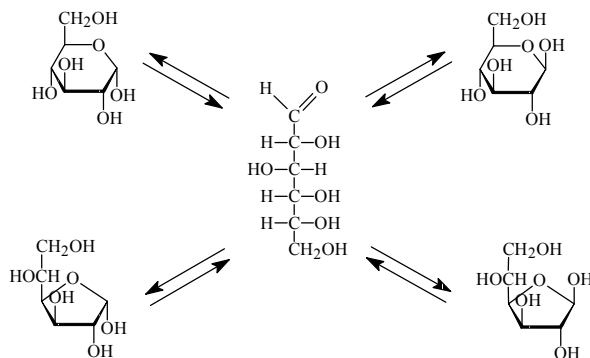
Отразите результаты полученного исследования в **выводах**.

Практическая работа № 6

Газохроматографический анализ моносахаридов [10]

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: Определить качественный и количественный состав гидролизатов или изолированных моносахаридов.

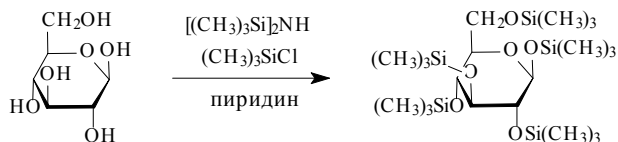
В гидролизатах происходит мутаротация моносахаридов, т.е. образование равновесной смеси таутомерных форм: α -, β -пиранозных, α -, β -фуранозных и открытой (альдегидной). Для глюкозы это иллюстрирует следующая схема:



Существование таутомерных форм затрудняет определение состава моносахаридов в гидролизате.

Моносахариды нелетучи и непосредственное разделение их смесей методом газожидкостной хроматографии невозможно. Сахара могут быть хроматографически разделены в виде летучих производных — простых и сложных эфиров. Широко распространен метод анализа в виде триметилсилильных (ТМС) производных моносахаридов. Последние являются летучими гликозидами простых О-триметилсилиловых эфиров углеводов, образующихся в результате полного замещения гидроксильных групп моносахаридов при их силировании.

В качестве силирующего реагента моносахаридов используют смесь триметилхлорсилана и гексаметилдисилазана в среде пиридина. В качестве примера приводится схема реакции силирования для β -D-глюкозы:



Подобным образом синтезируются ТМС-производные других моносахаридов. При этом устанавливается новая равновесная смесь, в которой преобладают пиранозные формы. Соотношение таутомеров в зависимости от условий колеблется. Состав ТМС-производных таутомерных форм индивидуальных моносахаридов приведен ниже.

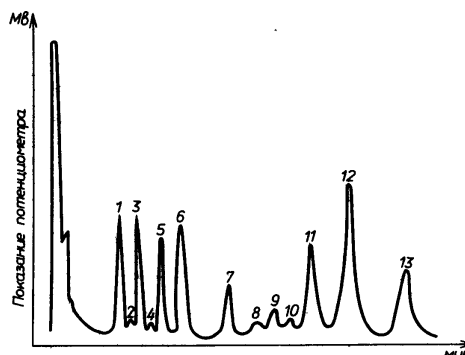
Таутомерные формы моносахаридов	Массовая доля, %
<i>L</i> - Арабиноза	100
α -Арабинопираноза	51,6
β -Арабинопираноза	40,1
Арабинофураноза	8,3
<i>D</i> - Ксилоза	100
α -Ксилопираноза	40,2
β -Ксилопираноза	56,2
Ксилофураноза	3,6
<i>D</i> - Манноза	100
α -Маннопираноза	72,8
β -Маннопираноза	27,2
<i>D</i> - Галактоза	100
α -Галактопираноза	29,9
β -Галактопираноза	45,8
Галактофураноза	24,3
<i>D</i> - Глюкоза	100
α -Глюкопираноза	47,3
β -Глюкопираноза	49,5
Глюкофураноза	3,2

Для уменьшения числа пиков на хроматограмме и упрощения ее обработки моносахариды восстанавливают до соответствующих многоатомных спиртов (полиолов) с последующим их превращением в ацетаты. Каждый полиол даст на хроматограмме один пик, поскольку таутомерия у полиолов невозможна.

При анализе ТМС-производных методом газожидкостной хроматографии используют в качестве газа-носителя — азот или гелий. В качестве жидкой фазы используют различные силиконовые масла и полиэфир. Наиболее селективными фазами из вырабатываемых отечественной промышленностью являются неполярное метилхлорсиликоновое масло и полярный политриэтиленгликольсебацат. В качестве твердого носителя применяют адсорбенты порохром-3 или хромат N (за рубежом широко применяют хромосорб-W).

Рисунок 35 – Хроматограмма модельной смеси ТМС производных моносахаридов:

1 – β -L-арабиноза; 2 – γ -D-ксилоза; 3 – α -L-арабиноза; 4 – γ -L-арабиноза; 5 – α -D-ксилоза; 6 – β -D-ксилоза; 7 – α -D-манноза; 8 – γ -D-галактоза; 9 – α -D-галактоза; 10 – β -D-манноза; 11 – α -D-глюкоза + β -D-галактоза; 12 – сорбит; 13 – β -D-глюкоза



Для хроматографического разделения смеси летучих производных моносахаридов используют ДИП. В соответствии с t_R на хроматограмме в определенном порядке появляются пики индивидуальных соединений. Порядок выхода при хроматографическом разделении ТМС-производных зависит от жидкой фазы. Его устанавливают предварительно для данной фазы с использованием модельных ТМС-производных чистых моносахаридов по их времени удерживания. В качестве примера на рисунке 35 приведена хроматограмма модельной смеси, разделенной на колонке с метилхлорфенилсиликоновым маслом в качестве жидкой фазы.

Характеристики удерживания ТМС-производных сахаров при хроматографии в следующих условиях: колонка из стали; длина – 3 м; диаметр – 3 мм; твердый носитель – хромосорб (120/140 меш); НЖФ – полиметилфенилсиликоновая жидкость (НМФМ-6); температура колонки – 170°C; изотермический режим; газ-носитель – гелий; расход газа – 60 мл/мин; температура испарения – 250°C — приведены в таблице 13.

Таблица 13 – Время удерживания ТМС-производных t_R

Компонент	t_R	Компонент	t_R
β -L-Арабиноза	7'48"	γ -D-Галактоза	20'54"
α -D-Ксилоза	8'48"	α -D-Галактоза	23'00"
α -L-Арабиноза	9'24"	β -D-Манноза	25'42"
γ -D-Арабиноза	10'42"	α -D-Глюкоза	27'24"
γ -D-Ксилоза	12'30"	β -D-Галактоза	28'12"
β -D-Ксилоза	15'30"	Сорбит	33'30"
α -D-Манноза	17'30"	β -D-Глюкоза	40'30"

Существует несколько методов количественного определения состава смеси по полученным хроматограммам. По первому методу опре-

деляют площади пиков всех таутомеров каждого моносахарида расчетом площади треугольной аппроксимацией пика — умножением основания пика на половину высоты. При частичном наложении пиков друг на друга и невозможности прямого измерения основания площадь пика определяют умножением его высоты на ширину, измеренную на половине высоты. Возможно также определять долю каждого пика его переносом на бумагу и взвешиванием вырезанного из нее пика на аналитических весах, относя найденную массу к массе всех анализируемых пиков. Результат выражают в процентах, используя метод нормировки площадей.

По второму методу количественное определение массовой доли конкретного моносахарида в смеси производят по площади пика одного из его таутомеров, исходя из условия, что при синтезе ТМС-производных в строго постоянных условиях соотношение таутомеров сохраняется постоянным. Это позволяет для расчета выбрать наиболее разрешенный пик, называемый характеристическим. В качестве таких пиков обычно используют пики ТМС-производных β -L-арабинопиранозы, β -D-ксилопиранозы, α -D-маннопиранозы, α -D-галактопиранозы и β -D-глюкопиранозы. Площади пиков остальных таутомеров непосредственно не измеряют, а находят расчетом. С учетом доли характеристического пика вычисляют общую площадь пиков всех таутомеров данного моносахарида. Количественное соотношение таутомерных форм необходимо устанавливать для данных условий хроматографирования и при их изменении определение следуют проводить вновь. Долю конкретного моносахарида находят отнесением площади всех пиков данного моносахарида к общей площади всех пиков.

Количественное определение массы индивидуальных моносахаридов производят с использованием внутреннего стандарта (сорбита). Масса сорбита, добавляемая в анализируемую смесь, должна обеспечить его концентрацию в растворе, примерно соответствующую концентрации индивидуальных моносахаридов. Расчет ведут по градуировочному графику. График получают, по данным хроматографирования эталонных растворов, содержащих индивидуальный моносахарид и сорбит. Градуировочный график строят в координатах: по оси абсцисс — масса чистого моносахарида в эталонном растворе, по оси ординат — отношение площади характеристического пика этого же моносахарида к площади пика внутреннего стандарта. График имеет линейную форму. Прямую линию проводят с использованием метода наименьших квадратов.

Относительная ошибка определений сахаров в гидролизате зависит от их массовой доли в анализируемой смеси и составляет 1–5%. Общее время анализа при серийном проведении определений около 2 ч, не считая времени на получение градуировочных графиков.

Ход работы:

Анализ гидролизатов методом газожидкостной хроматографии включает подготовку гидролизатов к анализу, синтез ТМС-производных моносахаридов, хроматографическое разделение этих производных и обработку хроматограмм.

Подготовка гидролизатов к анализу

Гидролизаты, полученные при обработке древесины концентрированной серной кислотой, нейтрализуют карбонатом бария до pH 5 (по универсальной индикаторной бумаге). Раствор отфильтровывают через конусообразную стеклянную воронку с бумажным фильтром от осадка сульфата бария. Гидролизаты, полученные при обработке древесины соляной кислотой, нейтрализуют карбонатом натрия до pH 5. В полученных гидролизатах определяют массовую долю редуцирующих веществ (РВ) [10]. При необходимости гидролизат упаривают в вакуум-сушильном шкафу при температуре 40°C.

Синтез ТМС-производных моносахаридов

В круглодонную колбу вместимостью 50 см³ вносят пипеткой пробу нейтрализованного и упаренного гидролизата, содержащего около 20 мг РВ. В случае изолированных сахаров используют пробу (нейтрализат), содержащую 0,02 г углеводов, и выпаривают досуха.

Работу выполняют в двух вариантах — с внутренним стандартом (сорбитом) или без него.

Раствор сорбита вносят в колбу пипеткой в объеме, соответствующем его массе, равной 2–5 мг. Колбу присоединяют к ротационному вакуумному испарителю и выпаривают раствор при температуре 40–42°C и остаточном давлении 0,5–1 кПа. Выпаривание производят досуха (в течение 5–10 мин). Для удаления следов воды к упаренной пробе добавляют 2–3 раза по 1 см³ спиртотолуольной смеси (4:1), которую также удаляют упариванием. Затем сухой остаток в этой же колбе растворяют в 2 см³ свежеперегнанного сухого пиридина, добавляют 0,6 см³ гексаметилдисилазана и 0,3 см³ триметилхлорсилана. Колбу закрывают пробкой, энергично встряхивают 30 с и при комнатной температуре выдерживают реакционную смесь в течение 10 мин.

Если анализируемая проба плохо растворяется, колбу нагревают на водяной бане при температуре 75–85°C в течение 2–3 мин. Затем проводят упаривание пиридина из реакционной смеси на ротационном испарителе при температуре 40°C и остаточном давлении 0,5–1 кПа в течение 10 мин. Остаток растворяют в этой же колбе в 2 см³ *n*-гексана. В хорошо

закрытых колбах ТМС-производные устойчивы в течение нескольких недель.

Хроматографическое разделение ТМС-производных

Разделение производят с использованием хроматографов. Подготовка и работа на приборе выполняется в соответствии с инструкцией, прилагаемой к прибору. Температура изотермического режима работы колонки составляет 150°C, расход газа-носителя (азота) — 60 см³/мин, продолжительность хроматографического разделения 30–40 мин.

В качестве жидкой фазы можно использовать метилхлорсилиновое масло ХС-2-1 (3% массы твердого носителя) или полиэтиленгликольсебацинат (10%). Пригодны также и другие жидкие фазы.

Обработка данных

Записанная на диаграммной ленте хроматограмма включает пики всех содержащихся в пробе гидролизата таутомеров моносахаридов. Проводят идентификацию пиков, пользуясь ранее установленными для данных условий хроматографирования значениями времени удерживания t_R таутомерных форм моносахаридов (см. ниже).

При первом варианте анализа (с внутренним стандартом) вычисляют площади пика стандарта и характеристического пика для каждого моносахарида умножением высоты пика на его ширину, измеренную на половине высоты.

Рассчитывают отношение площадей каждого характеристического пика моносахарида к площади пика внутреннего стандарта ($S_i / S_{ст}$). По этим соотношениям с помощью градуировочного графика находят массу каждого моносахарида в пробе гидролизата.

Массовую долю каждого моносахарида в гидролизате, %, рассчитывают по формуле:

$$c_i = \frac{m_i}{V \cdot 1000} \cdot 100$$

где m_i — масса моносахарида в пробе гидролизата, мг; V — объем пробы гидролизата, см³.

По полученным значениям c , для гидролизатов легко- и трудногидролизуемых полисахаридов рассчитывают массовые доли соответствующих полисахаридов в процентах по отношению к абсолютно сухой древесине [10].

По второму варианту рассчитывают долю каждого моносахарида в процентах от их общей массы по методу нормировки площадей. Вычис-

ляют сумму площадей всех пиков S и площади пиков каждого моносахарида S_M (как сумму площадей пиков его таутомеров).

Массовую долю каждого моносахарида, % к их общей массе, рассчитывают по формуле:

$$X_M = \frac{S_M}{S} \cdot 100$$

Определение времени удерживания моносахаридов

и построение градуировочных графиков

По первому варианту анализа (с внутренним стандартом) готовят эталонные растворы определенной концентрации чистых моносахаридов и внутреннего стандарта — сорбита. Для каждого моносахарида готовят пять эталонных растворов концентрацией от 2 до 10 мг/см³. Концентрация раствора сорбита постоянна — 4 мг/см³. Из каждого раствора отбирают три пробы, синтезируют ТМС-производные и хроматографируют, как указано выше. На каждой из трех хроматограмм для каждого пика фиксируют значение t_R , вычисляют площадь характеристического пика таутомера моносахарида S_i и площадь пика сорбита S_{st} . Таким образом, находят S_i / S_{st} для всех пяти эталонных растворов. По средним значениям результатов трех параллельных анализов для каждого из пяти эталонных растворов строят графики зависимости отношений S_i / S_{st} от массы моносахаридов, пользуясь методом наименьших квадратов.

Время удерживания для каждого моносахарида находят по шкале времени хроматограмм.

По второму варианту анализа для каждого моносахарида готовят по одному эталонному раствору чистых моносахаридов концентрацией 4–6 мг/см³, синтезируют ТМС-производные и хроматографируют пробы (три параллельных определения) в условиях, соответствующих методике анализа, и определяют t_R .

Примечания:

1. При подготовке гидролизатов вместо нейтрализации для удаления кислоты можно применять аниониты.
2. Объем пробы гидролизата можно уменьшить так, чтобы масса РВ в ней составляла около 10 мг, и анализ проводить в пенициллиновой баночке.
3. Для получения более точных результатов рекомендуется раствор пробы упаренного гидролизата в пиридине выдерживать в течение суток для установления устойчивого равновесия между таутомерными формами моносахаридов. Время выдерживания можно сократить до 2 ч добавлением к пиридину 0,2% перхлората лития $\text{LiClO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баффингтон Р., Уилсон М. Детекторы для газовой хроматографии: Пер с англ./ Под ред. В.Г. Березкина. –М.: Мир, 1993. – 80 с.
2. Высокоэффективная газовая хроматография: Пер. с англ./ Под ред. К. Хайвера. –М: Мир, 1993. –288 с.
3. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии / Под ред. И.В. Березина. –М.: Мир, 1988. – 688 с.
4. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. –М: Химия, 1990. –352 с.
5. Количественный анализ хроматографическими методами: Пер. с англ./ Под ред. Э. Кэц. –М: Мир, 1990. –336 с.
6. Король А.Н. Неподвижные фазы в газожидкостной хроматографии. –М: Химия, 1985. –240 с.
7. Крейчи М., Паюрек Я., Комерс Р. и др. Вычисления и величины в сорбционной колоночной хроматографии: Пер. с чешск. –М: Мир, 1993. –208 с.
8. Логутов В.И. Детекторы для газовых хроматографов «Цвет-500М». –Дзержинск, 1990. – 27 с.
9. Митрука Б.М. Применение газовой хроматографии в микробиологии и медицине: Пер. с англ. –М.: Медицина, 1978. –608 с.
10. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. –М.: Экология, 1991. –320 с.
11. Перри С., Амос Р., Брюер П. Практическое руководство по жидкостной хроматографии: Пер. с англ. –М: Мир, 1974. –260 с.
12. Пецев Н., Коцев Н. Справочник по газовой хроматографии: Пер. с болг. –М: Мир, 1987. –260 с.
13. Приготовление капиллярных колонок для газожидкостной хроматографии: методические указания к выполнению лабораторных работ. –Томск: Изд-во ТПИ им. С.М. Кирова, 1988. – 12 с.
14. Руководство по газовой хроматографии: Пер с нем. / Под ред. А.А. Жуховицкого. –М.: Мир, 1989. – 503 с.
15. Столяров Б.В., Савинов И.М., Виттенберг А.Г. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии. –Л: Химия, 1988. –336 с.
16. Тесаржик К., Комарек К. Капиллярные колонки в газовой хроматографии / Пер. с чешск. –М.: Мир, 1987. –222 с.
17. Холькин Ю.И. Хроматография в химии древесины. –М.: Лесная промышленность, 1976. –228 с.
18. Хроматографический анализ окружающей среды / Под ред. В.Г. Березкина. –М.: Химия, 1979. – 608 с.

ПРОГРАММА СПЕЦКУРСА
«ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА»

Всего	– 98 ч
Лекции	– 22 ч
Практические занятия	– 24 ч (4 пр. р. по 6 ч)

Цели и задачи дисциплины:

Целью данного спецкурса является овладение методами газовой хроматографии, как универсальными методами, позволяющими использовать однотипную аппаратуру для анализа различных веществ и физико-химических исследований.

Успешное выполнение практических работ предполагает усвоение теоретического материала по основам газовой хроматографии, ознакомление с аппаратурой, приобретение навыков по проведению типовых хроматографических анализов.

1. Введение

Физико-химические основы хроматографического процесса. Основные понятия и определения. Изотермы адсорбции. Абсорбция газа. Диффузия в газовой фазе.

Сущность и классификация методов хроматографии. Элюационная (проявительная), фронтальная, вытеснительная, электрохроматография; молекулярная, ионная, надмолекулярная; адсорбционная, распределительная, ионообменная, осадочная, аффинная, эксклюзионная; газовая и жидкостная хроматографии; аналитическая, неаналитическая, препаративная и промышленная.

Подбор оптимальных условий разделения пиков методом ГЖХ. Эффективность колонки. Скорость потока газа-носителя (уравнение Ван-Деемтера). Факторы, влияющие на селективность. Выбор температуры.

Понятие подвижной и неподвижной фаз. Газы (газ-носитель, вспомогательные газы). Неподвижная жидкость, ее природа. Классификация неподвижных жидких фаз (различные подходы к классификации). Методы нанесения НЖФ.

Твердые носители. Природа твердого носителя. Модифицирование сорбентов. Размер зерен сорбентов и плотность набивки колонки.

Адсорбент. Классификация; модифицированные адсорбенты, способы их приготовления.

2. АППАРАТУРНОЕ ОФОРМЛЕНИЕ

Система подготовки газов. Дозирующие устройства. Дозирование газообразных и жидких смесей, парофазное дозирование.

Хроматографические колонки (насадочные, микронасадочные, капиллярные). Материал, формы колонки. Установка и соединение колонок.

Детекторы (интегральный, дифференциальный; потоковый, концентрационный; универсальный, селективный, специфический). Критерии оценки детекторов (чувствительность, предел детектирования, линейность, инерционность, селективность).

Типы детекторов и их характеристики (ДЭЗ, ДИП, ДТИ, ДПФ, ДТП). Сравнительная характеристика газохроматографических детекторов.

Система термостатирования. Программирование температуры колонок. Регистрация сигналов детекторов (интеграторы, самописцы, ЭВМ).

Лабораторные хроматографы серии "Цвет-500", "3700", "Кристалл-2000", "Хьюлетт Паккард-4390А". Последовательность включения-выключения хроматографов.

3. ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

3.1. Качественный анализ

Параметры удерживания (первичные, исправленные, относительные). Индекс удерживания Ковача.

Подготовка пробы к анализу. Дериватизация. Задачи и основные экспериментальные приемы качественного анализа.

Качественный анализ на основе величин удерживания (метод сравнения, метод "метки", по удерживанию идентифицируемых соединений различными неподвижными фазами, с использованием корреляционных зависимостей параметров удерживания со строением молекул и их физико-химическими свойствами). Реакционная газовая хроматография. Хроматоспектральный анализ (сочетание газовой хроматографии с масс- и ИК-спектроскопии).

3.2 Количественный анализ

Хроматограмма как источник сведений о количественном составе анализируемой смеси. Выбор и измерение основных количественных параметров хроматографических пиков. Графические способы определения площадей хроматографических пиков. Ручные методы (метод треугольника, методы приближенного определения площадей пиков). Определение площадей не полностью разрешенных пиков. Определение пло-

пиков асимметричных пиков. Определение площадей узких и зашкаленных пиков. Автоматические методы определения площадей пиков. Ускоренные методы обсчета хроматограмм.

Методы расчета концентраций анализируемых веществ. Метод абсолютной калибровки (прямое сравнение, метод калибровочной кривой, метод внутренней нормализации, метод внутреннего стандарта, метод стандартной добавки.

ТЕМЫ ЛЕКЦИЙ

1. Введение. Общая схема газового хроматографа. Основные понятия и определения. Сущность и классификация методов хроматографии.
2. Хроматограмма. Параметры удерживания.
3. Подбор оптимальных условий разделения хроматографических пиков.
4. Подвижные и неподвижные фазы.
5. Твердые носители. Адсорбент.
6. Хроматографические колонки. Система подготовки газов.
7. Дозирующие устройства. Общие сведения о детекторах. ДЭЗ.
8. Детекторы: ДИП, ДТИ, ДПФ.
9. Детектор по теплопроводности (катарометр).
10. Качественный анализ.
11. Количественный анализ.

ЛАБОРАТОРНЫЕ ЗАНЯТИЯ

1. Приготовление набивных колонок (Нанесение неподвижной жидкой фазы на твердый носитель).
2. Оценка качества набивных колонок.
3. Качественный анализ по параметрам удерживания.
4. Количественный анализ смеси различными методами.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ОТЧЕТА В РАБОЧЕМ ЖУРНАЛЕ

(подпись преподавателя о допуске к работе)

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № _____

Тема:

Цель работы:

Работа начата:

Окончена:

План работы:

1. Материалы, посуда и оборудование.
2. Этапы выполняемой работы.
3. Рисунки и обозначения.
4. Результаты работы в виде графиков и расчетных таблиц.
5. Техника безопасности.
6. Выводы.

Подпись преподавателя: _____

**ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ
ПРИ РАБОТЕ С ГАЗОВЫМИ ПРИБОРАМИ**

1. В помещении, где работают одновременно несколько газовых хроматографов, обязательно должна быть общеобменная вентиляция. Кроме того, над каждым хроматографом желательно наличие местного отсасывающего устройства.
2. Баллоны со сжатыми газами (аргон, водород, азот и т.д.) должны располагаться снаружи здания, в железных контейнерах (отдельно каждый баллон), с защитой от солнечных лучей.
3. Газоподводящие линии должны быть изготовлены из трубок из нержавеющей стали или медных, диаметром 3–4 мм, сваренный в местах соединений. Линии должны быть проверены на герметичность при давлении 10 атм, результаты отражены в виде актов.
4. Кабинеты и лаборатории газовой хроматографии не рекомендуется располагать выше первого- второго этажей.
5. Ни в коем случае нельзя допускать утечки газов из баллонов и линий. При падении давления по манометру следует «обмылить» места возможных утечек и немедленно ликвидировать обнаруженную негерметичность.
6. В помещениях, где проводятся работы на газовых хроматографах с водородным пламенем, курение и зажигание огня строго воспрещается. Нельзя поджигать спичкой водородное пламя.
7. Работы на газовых хроматографах не производятся в одиночку, так как в случае разрыва газовой линии, особенно водородной, работающему должна быть оказана немедленная помощь.
8. Все контакты, находящиеся под напряжением выше 127 В, должны находиться под надежным электроизолирующим прикрытием.
9. Стекланные сосуды, в которых могут содержаться взрывоопасные газы и жидкости должны быть обмотаны изоляционной лентой или помещены в чехлы металлической сетки.
10. При приготовлении газообразных стандартных смесей, в состав которых входят горючие вещества, необходимо учитывать возможность образования взрывоопасных смесей с воздухом.

11. Баллоны должны иметь соответствующие надписи и быть окрашены снаружи в следующие цвета:
 - а) для кислорода — голубой, надпись черными буквами «КИСЛОРОД».
 - б) для ацетилена — белый, надпись красными буквами «АЦЕТИЛЕН».
 - в) для водорода — темно-зеленый, надпись красными буквами «ВОДОРОД».
 - г) для азота — черный, надпись желтыми буквами «АЗОТ».
 - д) для воздуха — черный, надпись белыми буквами «СЖАТЫЙ ВОЗДУХ».
 - е) для гелия — темно-красный, надпись белыми буквами «ГЕЛИЙ».
 - ж) для аргона — серый, надпись зелеными буквами «АРГОН».
12. Баллоны должны иметь клеймо со следующими обозначениями: марка завода изготовителя, испытания, год изготовления, дата следующего испытания, емкость баллона в литрах, вес баллона, рабочее давление (Р) и пробное гидравлическое (П), клеймо технического инспектора, производившего последнее испытание.
13. При невозможности на месте потребления выпустить газ, из-за неисправности вентилей, баллоны должны быть возвращены на испытательную станцию.
14. Лаборатория должна быть оборудована медицинской аптечкой.
15. В лаборатории должны иметься средства пожаротушения (песок, асбестовой одеяло, огнетушитель и т.д.).
16. Работающие в газохроматографической лаборатории должны знать место нахождения центрального сетевого рубильника и уметь им воспользоваться в случае необходимости.
17. Прием пищи в лаборатории строго воспрещается.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Адсорбент 46
- Вольт-амперная характеристика 72
- Время удерживания 12
 - исправленное 13
 - «мертвое» 13
 - относительное 16
- Вспомогательный газ 32
- ВЭТТ 20
- ВЭЭТТ 21
- Газ-носитель 31
- Детектор 62
 - атомно-эмиссионный 92
 - быстродействие (инерционность) 69
 - гелий-ионизационный 93
 - дифференциальный 63
 - интегральный 62
 - инфракрасный 91
 - концентрационный 63
 - линейный диапазон 68
 - масс-селективный 91
 - пламенно-ионизационный 79, 90
 - пламенно-фотометрический 84, 91
 - постоянной скорости рекомбинации 78
 - потоковый 63
 - по теплопроводности 86, 90
 - редокс-хемилюминисцентный 93
 - селективность 69
 - термоионный 80, 90
 - электронного захвата 73
- Дозатор 59
- Дроссель 57
- Измеритель расхода газа
 - мыльно-пленочный 58
 - реометр 59
 - ротаметр 59
- Индекс удерживания Ковача 17, 30
- Инжектор (испаритель) 60
- Качественный анализ
 - метод добавки 97
 - метод сравнения 97
 - по графикам удерживания 97
- Количественный анализ
 - метод абсолютной калибровки 112
 - Бартлета и Смита 110
 - внутреннего стандарта 115
 - внутренней нормализации 114
 - опускания перпендикуляра 111
 - стандартной добавки 116
 - триангуляции 106
 - расчет зашкаленных пиков 108
 - не полностью разделенных пиков 109
 - полной площади 108
- Колонки
 - геометрический объем 120
 - заполнение 122
 - капиллярные 24, 36, 50
 - кондиционирование 125
 - микронасадочные 50
 - насадочные (набивные) 24, 49
- Коэффициент абсолютный поправочный 117
 - емкости (извлечения) 14
 - относительный массовый калибровочный 118
 - мольный поправочный 118
 - равновесного распределения 26
- Метод вытеснительный 8
 - проявительный (элюационный) 7
 - фронтальный 7
 - электрохроматография 8
- Метод нанесения НЖФ
 - в вакууме 41
 - в «кипящем слое» (противоточный) 41
 - «испарения из чашечки» 38
 - на капиллярную колонку 42
 - на пористые полимеры 42
 - фильтрационный 40
 - фронтальный 40
- Неподвижная жидкая фаза 6, 33
 - МДРТ 34
 - полярность 35
 - прививка 37
 - сшивка 37
- Нулевая линия 11
- Образование хвоста
- ПВЭТТ 21
- Подвижная фаза 6,
- Поток вещества 64
- Предел обнаружения 67
- Расстояние удерживания 12
- Регулятор давления 57
 - расхода газа (скорости потока) 57
 - исправленное 14
- Селективность 26

- фактор 27
- Сигнал фоновый 66
- дрейф 67
- шум 67
- Система детектирования 5
 - дозирования 4
 - инструментальной обработки данных 5
 - подготовки газов 4
 - обработки сигналов детектора 95
 - регистрации 5
 - термостатирования 5, 94
- Степень разделения 27
- Твердые носители 43
 - из графитовой сажи 45
 - модифицирование 47
 - полимерные 45
 - силикатные 44
 - белый материал 44
 - розовый материал 44
- Температура удерживания 56
- Техника безопасности 149
- Ток ионный 71
- Толщина пленки
- Удерживаемый объем 12
 - исправленный 14
 - приведенный 15
 - удельный 15
 - абсолютный 16
 - относительный 16
 - эффективный (чистый) 15
- Уравнение Ван-Деемтера 22
- Хроматограмма 11
- Хроматограф 4
- Хроматографический пик 11
 - высота 101
 - площадь 101
 - размытие 11
 - тыл 11
 - фронт 11, 104
 - «хвост» 104
 - ширина 102
- Хроматография 3
 - аналитическая 9
 - аффинная 9
 - газовая 3
 - жидкостная 9
 - ионообменная 9
 - капиллярная
 - неаналитическая 10
 - осадочная 9
 - препаративная 10
 - промышленная 10
- распределительная 8
- Число разделения 30
- Число теоретических тарелок 20
 - эффективных 20
- Чувствительность 64
- Эффективность 20

СОДЕРЖАНИЕ

ЧАСТЬ I. ОСНОВЫ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

ГЛАВА I. ВВЕДЕНИЕ В ГАЗОВУЮ ХРОМАТОГРАФИЮ	3
1.1 Основы метода	3
1.2 Принципиальная схема газового хроматографа	4
1.3 Сущность и классификация методов хроматографии	6
1.4 Хроматограмма	10
1.5 Элюционные характеристики	12
1.5.1 Первичные параметры удерживания	12
1.5.2 Исправленные и приведенные параметры удерживания	13
1.5.3 Абсолютные параметры удерживания	15
1.5.4 Относительные параметры удерживания	16

**ГЛАВА II. ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ
НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ
ВЕЩЕСТВ**

2.1 ТЕОРИЯ ТАРЕЛОК	19
2.1.1 Эффективность.....	20
2.1.2 Уравнение Ван-Деемтера.....	22
2.1.3 Селективность.....	26
2.1.4 Степень разделения	27
2.1.5 Выбор температуры	30
2.2 ГАЗЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ХРОМАТОГРАФИИ.....	31
2.3 НЕПОДВИЖНЫЕ ЖИДКИЕ ФАЗЫ.....	33
2.3.1 Классификация неподвижных жидких фаз.....	33
2.3.2 Типы неподвижных фаз для капиллярной хроматографии.....	36
2.3.3 Выбор количества неподвижной фазы.....	38
2.3.4 Методы нанесения неподвижной жидкой фазы	38
2.4 ТВЕРДЫЕ НОСИТЕЛИ И АДСОРБЕНТЫ.....	42
2.4.1 Природа твердого носителя.....	43
2.4.2 Модифицирование твердых носителей	46
2.4.3 Размер зерен сорбента	48
2.4.4 Плотность набивки колонки.....	48
2.5 ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ КОЛОНКИ	48
2.5.1 Насадочные (набивные) колонки.....	49
2.5.2 Капиллярные колонки.....	49
2.5.3 Формы, установка и соединение колонок.....	51
2.5.4 Факторы, влияющие на эффективность колонки.....	52

ГЛАВА III. АППАРАТУРА	57
3.1 СИСТЕМА ПОДГОТОВКИ ГАЗОВ.....	57
3.1.1 Основные элементы.....	57
3.1.2 Манометры и расходомеры	58
3.2 ДОЗИРУЮЩИЕ УСТРОЙСТВА.....	59
3.2.1 Микрошприцы.....	61
3.2.2 Полуавтоматические дозаторы	62
3.2.3 Автоматические дозаторы	62
3.3 СТАНДАРТНЫЕ ДЕТЕКТОРНЫЕ СИСТЕМЫ	62
3.3.1 Характеристики детекторов	64
3.3.2 Оценка состояния детектора по его основным характеристикам.....	70
3.3.3 Принципы ионизационного детектирования.....	71
3.3.4 Детектор электронного захвата (ДЭЗ).....	73
3.3.5 Пламенно-ионизационный детектор (ДИП)	79
3.3.6 Термоионный детектор (ДТИ)	80
3.3.7 Пламенно-фотометрический детектор (ПФД)	84
3.3.8 Детектор по теплопроводности (ДТП)	86
3.3.9 Стандартные режимы работы хроматографа с некоторыми детекторами	90
3.4 СПЕКТРАЛЬНЫЕ ДЕТЕКТОРНЫЕ СИСТЕМЫ	91
3.4.1 Инфракрасные детекторы (ИКД)	91
3.4.2 Масс-селективный детектор (МСД)	91
3.4.3 Атомно-эмиссионный детектор (АЭД).....	92
3.5 ДРУГИЕ ДЕТЕКТОРНЫЕ СИСТЕМЫ.....	92
3.5.1 Гелий-ионизационный детектор (ГИД)	92
3.5.2 Редокс-хемилюминесцентный детектор (РХД).....	93
3.6 СИСТЕМА ТЕРМОСТАТИРОВАНИЯ.....	94
3.7 СИСТЕМА ОБРАБОТКИ СИГНАЛОВ ДЕТЕКТОРОВ	95
ГЛАВА IV. КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ	96
4.1 КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭТАЛОННЫХ СО- ЕДИНЕНИЙ.....	96
4.2 ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ СМЕСИ ПО ГРАФИКАМ УДЕР- ЖИВАНИЯ	97
ГЛАВА V. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ	101
5.1 РУЧНЫЕ СПОСОБЫ ОБРАБОТКИ ХРОМАТОГРАММ.....	101
5.2 ИЗМЕРЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПАРАМЕТРОВ ХОРОШО РАЗДЕЛЕННЫХ ПИКОВ	101
5.3 ИЗМЕРЕНИЕ ПЛОЩАДЕЙ ГАУССОВЫХ ПИКОВ	105
5.3.1 Методы триангуляции	106

5.3.2 Расчет полной площади гауссового пика.....	108
5.3.3 Методы расчета площадей зашкаленных пиков	108
5.3.4 Определение площадей не полностью разделенных пиков ..	109
5.4 МЕТОДЫ РАСЧЕТА СОСТАВА СМЕСИ ПО ХРОМАТОГРАММАМ.....	111
5.4.1 Метод абсолютной калибровки	112
5.4.2 Метод внутренней нормализации	114
5.4.3 Метод внутреннего стандарта.....	115
5.4.4 Метод стандартной добавки.....	116
5.4.5 Экспериментальное определение абсолютных и относительных калибровочных коэффициентов.....	117
ГЛАВА VI. ПРАКТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ.....	119
ОБЩИЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ	119
Практическая работа № 1	120
Практическая работа № 2	123
Практическая работа № 3	125
Практическая работа № 4	129
Практическая работа № 5	131
Практическая работа № 6	137
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. ПРОГРАММА СПЕЦКУРСА «ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА»	145
ПРИЛОЖЕНИЕ 2. ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ОТЧЕТА В РАБОЧЕМ ЖУРНАЛЕ	148
ПРИЛОЖЕНИЕ 3. ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ГАЗОВЫМИ ПРИБОРАМИ.....	149
ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ	151

ПРАКТИЧЕСКАЯ ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Учебно-методическое пособие
для студентов химического факультета по спецкурсу
«Газохроматографические методы анализа»

А в т о р ы :

Царев Николай Иванович – канд. хим. наук, судебно-медицинский эксперт
Алтайского краевого бюро судебно-медицинской экспертизы;

Царев Владимир Иванович – судебно-медицинский эксперт I категории
Алтайского краевого бюро судебно-медицинской экспертизы;

Катраков Игорь Борисович – канд. хим. наук, старший преподаватель
кафедры органической химии АГУ

Подготовка оригинал-макета: И.Б. Катраков

ЛР № 020261 от 14.01.97

Н/К

Подписано в печать 01.06.00. Формат 60х80/16. Бумага типографская.

Печать офсетная. Усл.-п.л. 10. Тираж 100 экз. Заказ

Типография издательство Алтайского государственного университета:
656099, г. Барнаул, ул. Димитрова, 66.